

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

(JOURNAL DE MICROBIOLOGIE)

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR A LA SORBONNE

Et un Comité de rédaction composé de :
MM.

CHAMBERLAND, chef de service à l'Institut Pasteur.

D^r GRANCHER, professeur à la Faculté de médecine.

METCHNIKOFF, chef de service à l'Institut Pasteur.

NOCARD, professeur à l'École vétérinaire d'Alfort.

D^r ROUX, chef de service à l'Institut Pasteur.

D^r STRAUS, professeur à la Faculté de médecine.

TOME SEPTIÈME

1893

AVEC QUINZE PLANCHES

PARIS

G. MASSON, ÉDITEUR

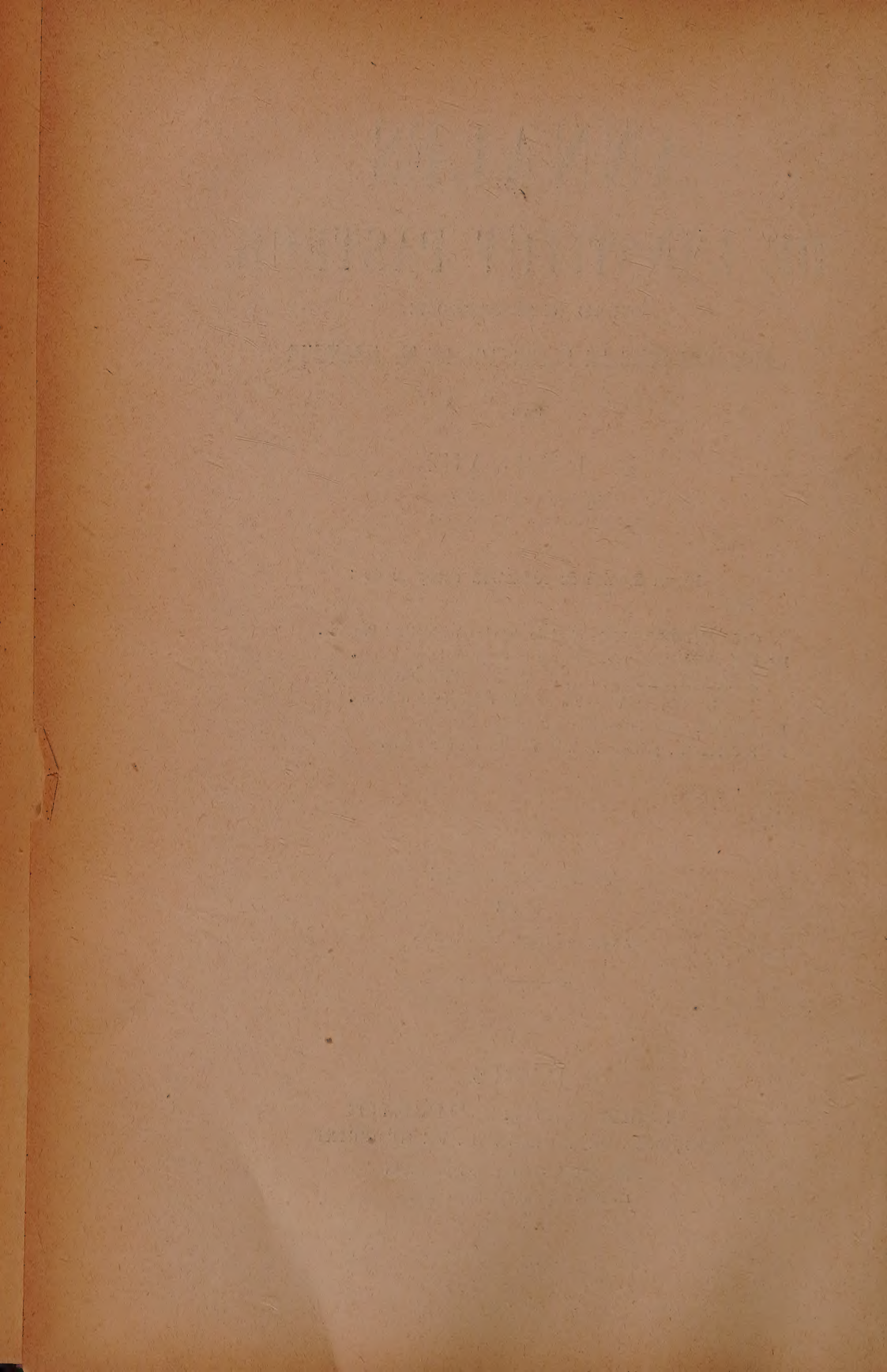
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

QR
1
A475
v.7
1893
PER

MUSEUM D'HISTOIRE NATURELLE
LABORATOIRE
de PATHOLOGIE COMPARÉE



ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LE JUBILÉ DE M. PASTEUR

Le 27 décembre 1892, a été célébré avec éclat, en présence de M. le Président de la République, le 70^e anniversaire de la naissance de M. Pasteur. Des médailles, des adresses, des télégrammes ont apporté de tous les points du monde des témoignages de reconnaissance, des compliments et des souhaits.

Cette belle solennité laissera de longs souvenirs chez tous ceux qui y ont assisté. C'est qu'elle n'était pas seulement la fête d'un savant, si glorieux soit-il ; c'était aussi une fête de la Science, qui a le droit de s'enorgueillir que les noms qu'elle illustre soient les seuls que puissent célébrer à l'envi et sans arrière-pensée tous les peuples civilisés. La rédaction des *Annales* tient à honneur de rester fidèle à cette science sans frontières, qui accueille avec reconnaissance la vérité, d'où qu'elle vienne ; mais elle est fière de posséder à sa tête le savant illustre et vénéré pour lequel l'amour de la science a toujours été une forme élevée du patriotisme, et qui, dans les hommages dont on l'a comblé dans l'amphithéâtre de la Sorbonne, voyait surtout l'éclat qui en rejaillissait sur son pays.

SUR LES PHOSPHATES DU LAIT

PAR M. DUCLAUX.

Les phosphates du lait sont pour beaucoup dans la valeur alimentaire de ce liquide. C'est avec eux que le jeune animal en lactation constitue son système osseux; d'une manière plus générale, Bunge a démontré que la matière minérale d'un jeune chien, incinéré en entier, avait à peu près la même composition que les cendres du lait de chienne.

Les sels minéraux du lait exercent en outre une influence considérable sur les propriétés de la caséine, sur sa coagulation, sur son degré de cohésion, sur sa digestibilité. O. Hammarsten a cherché à expliquer théoriquement cette influence en admettant que, sous l'action de la présure, la caséine se dédouble en deux nouvelles substances. L'une, qui est en quantité de beaucoup prédominante, est insoluble dans la solution de phosphate calcique que présente le lait, et se précipite, sous forme de coagulum, en entraînant une proportion plus ou moins grande de chaux et d'acide phosphorique. L'autre corps azoté, qui se forme en quantité très minime dans le dédoublement, constitue la *protéine du sérum*, et reste en solution.

Cette théorie a été reprise tout récemment, avec des arguments nouveaux, par MM. Arthus et Pagès, pour lesquels la présure dédouble la caséine du lait en deux substances : une albumose qui reste dans le petit lait, et une substance caséogène qui donne avec les sels de calcium un composé insoluble, le caséum. C'est la théorie d'O. Hammarsten, sauf que la formation d'un coagulum est considérée, non comme le résultat d'un phénomène d'insolubilité dans un liquide contenant du phosphate calcique, mais comme le résultat de la combinaison chimique d'une substance dite *caséogène* avec le calcium pour donner la substance insoluble, dite *caséum*. MM. Arthus et

Pagès considèrent en effet ce caséum comme un composé chimique, parlent de caséum calcique, barytique, sans avoir du reste cherché à démontrer que la composition de ces corps était constante, ni rien fait pour justifier le nom qu'ils leur donnaient.

A ces théories du dédoublement pendant la coagulation, j'ai fait deux objections principales. En premier lieu, lorsqu'on filtre comparativement, sur une bougie de porcelaine, du lait normal et du lait coagulé, pour bien y distinguer ce qui est en solution véritable et passe au travers du filtre, de ce qui est en suspension et qui reste à sa surface, on ne trouve pas plus de matière albuminoïde dissoute dans un cas que dans l'autre, ce qui prouve que, dans les limites de précision de la mesure, il ne se forme aucune nouvelle matière soluble par suite de la coagulation. En second lieu, les sels de chaux jouent un rôle passif, au lieu de jouer un rôle actif dans la coagulation, comme le veulent les théories précédentes. Le phosphate de chaux du caséum est en simple suspension dans le lait et s'en sépare par le repos. Il ne fait pas plus partie du caséum, que ne font partie de l'eau les limons qui s'en déposent. On n'a pas le droit de le considérer comme faisant partie des *cendres* de cette substance. On a encore moins le droit de compter, sans autre informé, le phosphore trouvé dans ces cendres comme élément du caséum. En se formant, le coagulum enferme dans ses mailles le phosphate de chaux en suspension dans le lait, et ne s'en sépare ensuite que difficilement. La proportion de sel de chaux soluble est en outre la même, avant ou après coagulation, dans la portion qui filtre au travers d'un diaphragme de porcelaine, ce qui est contraire à l'idée d'une combinaison calcique, se produisant pendant la coagulation.

Ces faits, publiés en 1883, n'ont pas été contredits par M. Hammarsten, et MM. Arthus et Pagès, qui, depuis, ont fait leur travail sur le lait, semblent les avoir ignorés. On aurait pourtant pu me reprocher que ma démonstration n'était pas tout à fait correcte. Ma première objection résulte d'un dosage comparatif de la matière albuminoïde dans le liquide filtré du lait coagulé et non coagulé. Cette filtration n'est pas quelque chose d'aussi simple que la filtration d'un précipité cristallin, et il y a de ce fait des difficultés sur lesquelles je reviendrai. Telle quelle est, et avec les renseignements que j'ai donnés, la

démonstration est suffisante. On a le droit de se montrer un peu plus difficile au sujet de la seconde objection, relative au dosage comparatif du phosphate de chaux.

Je m'étais contenté, pour aller vite, de dissoudre dans l'acide acétique, mélangé au besoin d'une goutte ou deux d'acide chlorhydrique dilué, les cendres provenant du lait entier ou du lait filtré, et de précipiter par l'ammoniaque. Les cendres du lait contiennent toujours plus d'acide phosphorique qu'il n'en faut pour former avec la chaux du phosphate tribasique; il y a en outre dans ces cendres de l'alumine, du sesquioxyde de fer, de la magnésie. Le précipité obtenu par l'ammoniaque contenait donc, mélangé au phosphate de chaux, des phosphates de fer, d'aluminium, et du phosphate ammoniaco-magnésien que la calcination transforme en pyrophosphate. Tous ces phosphates mélangés au phosphate de chaux sont en assez faible quantité pour que les conclusions à tirer des dosages soient encore valables, et c'est dans ce sens que je les ai données. Mais il y aurait évidemment intérêt à serrer la question de plus près.

Il n'est pas douteux aujourd'hui que le lait ne contienne des éléments en suspension et des éléments en solution. Dans les éléments en suspension, en laissant de côté les globules gras, il faut compter surtout la caséine et les phosphates. Quels sont ces phosphates, et, lorsqu'on a recombinaé par le calcul, à l'état de phosphates tribasiques, les quantités des diverses bases trouvées par l'analyse avec la quantité voulue d'acide phosphorique, y a-t-il un excédent d'acide phosphorique ou de phosphore imputable au caséum lui-même, et entrant dans sa constitution au même titre que le carbone ou l'azote? Comme les matériaux en suspension comprennent les $\frac{7}{8}$ de la caséine et un peu moins de la moitié des éléments salins, ils se prêtent bien mieux à cette étude que le lait entier, parce que, d'un côté, l'évaluation de l'excédent d'acide phosphorique est plus sûre, et que, de l'autre, cet excédent est à répartir sur une quantité de caséine presque égale à celle qui existe dans ce lait.

Si nous passons maintenant aux sels en solution, nous rencontrons d'autres questions qui se posent. Dans les cendres du lait filtré au travers de la porcelaine, nous trouvons encore de l'acide phosphorique et de la chaux. Dans quelle proportion sont ces deux éléments, et à quel état a-t-on le droit de les supposer en

suivant les règles, arbitraires il est vrai, qui servent à transformer une analyse élémentaire en analyse immédiate? Le phosphate tribasique de chaux est insoluble, le phosphate bibasique l'est aussi; seul le phosphate monobasique peut se dissoudre, mais il est acide. L'acidité qui en provient est-elle du même ordre que l'acidité normale du lait? Les citrates dont on a signalé la présence dans le lait jouent-ils un rôle dans la solubilisation des phosphates?

Ce n'est pas tout. Le phosphate de chaux y est à l'état d'éléments fins, presque muqueux, se dissolvant très facilement dans les acides les plus faibles. Cet état de division muqueuse, cette facile solubilité assurent sa circulation dans l'organisme du jeune animal, soit qu'il y entre en nature, ce que lui permet sa division extrême, soit qu'il y entre en solution acide facile à précipiter. Pour donner aux phosphates naturels des propriétés alibiles, on a songé de divers côtés à les faire passer par l'organisme de la vache, à laquelle on les sert à l'état pulvérisé, dans l'espoir de les voir reparaitre dans son lait sous une forme plus digestible. Ceci revient à demander à la vache ce travail préliminaire qu'on n'ose pas demander à un enfant qu'on veut soumettre à une alimentation phosphatée. Mais la vache en est-elle capable? Le lait qu'elle fournit dans ces conditions d'alimentation renferme-t-il plus de phosphates que le lait naturel? Si oui, sont-ils à l'état de phosphates solubles ou de phosphates en suspension? Une réponse à cette question est d'autant plus utile qu'il y a un moyen très simple d'augmenter, sans passer par la vache, la richesse d'un lait en phosphates, et de justifier par cette augmentation l'augmentation du prix. Il suffit d'y ajouter des os pulvérisés ou du phosphate de soude, suivant qu'on voudra accroître la proportion des phosphates en suspension ou en solution. Y a-t-il des moyens de se mettre en garde contre cette fraude?

Toutes ces questions forment l'objet d'un travail considérable dont je ne publie en ce moment que la première partie, celle qu'il est possible de faire dans un milieu aussi hostile aux études laitières que l'est Paris. La seconde partie, qui exige des expériences sur des animaux, a été interrompue quand j'ai quitté la Station laitière du Cantal; j'espère pouvoir les reprendre bientôt dans la même région.

I

L'étude de tous ces problèmes exige une analyse exacte des cendres, analyse dont les procédés sont bien connus. J'ai toujours opéré sur 100 c. c. de lait, que j'évaporais au bain-marie, et que je calcinais dans une capsule de platine, à une aussi basse température que possible. Les cendres, pesées lorsqu'elles sont bien blanches, sont reprises par l'acide chlorhydrique étendu où elles se redissolvent intégralement, ce qui démontre qu'il n'y a jamais de silice en proportions sensibles. On ajoute de l'ammoniaque jusqu'à formation d'un commencement de précipité, puis de l'acide acétique ajouté goutte à goutte et en léger excès, de façon à ne laisser indissous que les phosphates de fer et d'alumine.

C'est ici qu'on trouve le bénéfice de n'avoir pas trop chauffé pendant la calcination. Le phosphate de chaux porté à un rouge trop vif se redissout plus péniblement dans l'acide chlorhydrique, et cette dissolution, ne semble pas lui faire perdre sa cohésion et son degré de résistance aux acides, car, précipité par l'ammoniaque, il est encore très résistant à l'attaque par l'acide acétique, et peut refuser de se dissoudre. Si on chauffe, on ne réussit qu'à le rendre plus insoluble, et en plus on précipite une partie de celui qui s'était déjà dissous. On évite toute difficulté, en calcinant au rouge naissant dans les portions les plus chaudes de la capsule de platine. Quand on dépasse ce terme, on est exposé à compter une partie du phosphate de chaux des cendres comme du phosphate de fer et d'alumine.

Le fait a dû se produire souvent, car les quantités de phosphate de fer et d'alumine que j'ai trouvées dans mes analyses n'ont jamais dépassé 5 milligrammes pour 100 c. c. de lait. Cela correspond à 10 milligrammes environ de sesquioxyde de fer par litre de lait. Or la majorité des analyses publiées en donnent 30 à 50 milligrammes.

D'ordinaire le poids de phosphate de fer et d'alumine provenant des cendres de 100 c. c. de lait ne dépasse pas 2 milligrammes. La teneur en acide phosphorique de ces deux phos-

phates est à peu près la même, et voisine de 50 0/0. On ne commet qu'une erreur négligeable en comptant comme acide phosphorique la moitié du poids des phosphates trouvés, dont il est inutile de pousser plus loin l'étude. Dans le liquide filtré on précipite à la façon ordinaire la chaux par l'oxalate d'ammoniaque, puis la magnésie à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien, en ajoutant un excès d'ammoniaque au liquide de filtration et de lavage de l'oxalate de chaux, convenablement évaporé au bain-marie, s'il est trop étendu. On concentre à nouveau les liquides de filtration et de lavage du phosphate ammoniaco-magnésien, et on y précipite les dernières portions d'acide phosphorique en y ajoutant du chlorure de magnésium et de l'ammoniaque. Les éléments autres que l'alumine, le fer, la magnésie, la chaux et l'acide phosphorique, ne nous intéressent pas pour le moment, et nous les confondrons sous la dénomination d'éléments non dosés. Ils sont formés presque exclusivement de chlore, de potasse et de soude.

Pendant que ces opérations s'accomplissent, une autre portion du même lait est filtrée sous pression au travers d'une bougie Chamberland. On recueille une centaine de centimètres cubes du liquide limpide. Il importe que pendant les vingt-quatre heures nécessaires à cette filtration, le lait ne se coagule ni ne s'acidifie pas, pour éviter qu'une partie du phosphate de chaux en suspension ne passe en solution, et que la répartition qu'on veut surprendre ne soit ainsi modifiée. Il faut pour cela soit stériliser le lait sur lequel on opère, soit, ce qui est préférable, le refroidir en y mettant un *nageur* rempli de glace. Il n'y a pas à craindre de voir se peupler le liquide filtré, si on le reçoit dans un vase stérilisé et si la bougie filtrante a été bien flambée. On évapore au bain-marie 100 centimètres cubes de ce liquide filtré et on le traite absolument comme on fait du lait, tant pour la calcination que pour l'analyse des cendres.

Les analyses terminées, il n'y a plus qu'à comparer les deux séries de chiffres. Pour être tout à fait exact, il faudrait tenir compte de ce que 100 centimètres cubes du liquide filtré ne correspondent pas à 100 centimètres cubes de lait. Ils représentent la partie liquide de 100 centimètres cubes de lait, plus la caséine et la matière grasse restées sur le filtre. Mais, dans une première approximation et pour simplifier, nous admettrons la

correspondance exacte des deux volumes de liquide. Dès lors, en retranchant pour chacun des éléments étudiés la quantité trouvée dans le lait filtré de la quantité trouvée dans le lait complet, on a la quantité de cet élément existant en suspension dans le lait, et on peut faire pour le détail des sels, ce que j'ai commencé à faire dans mes études sur le lait, à propos de la caséine et du phosphate de chaux, distinguer les éléments en suspension des éléments en solution.

Prenons comme exemple un lait de Norvège conservé par la méthode de Dahl. La composition des cendres du lait complet et du lait filtré, telle qu'elle a été fournie par l'analyse, était la suivante :

	Lait complet	Lait filtré
Alumine et fer	0,005	0,002
Magnésie	0,017	0,011
Chaux	0,178	0,031
Acide phosphorique	0,213	0,088
Autres éléments non dosés	0,339	0,302
TOTAL	0,752	0,454

En retranchant les nombres correspondants des deux colonnes, on a pour les éléments en suspension dans ce lait les chiffres suivants :

Alumine et fer	0,003
Magnésie	0,006
Chaux	0,127
Acide phosphorique	0,125
Autres éléments	0,037
TOTAL	0,298

Ces nombres correspondent aux éléments du lait qui, comme le phosphate tribasique de chaux, sont insolubles et ne peuvent exister qu'à l'état de suspension dans ce liquide. Ils correspondent aussi à ceux des éléments solubles ou insolubles qui sont retenus, par voie d'affinité capillaire, dans les mailles du caséum resté à la surface du filtre. On sait, en effet, que les corps gélatineux, colloïdaux, exercent d'ordinaire une action de *collage* sur les substances qu'ils rencontrent dans le liquide qui les contient. Ils en retiennent quelques-unes, de préférence celles qui

se rapprochent de l'état colloïde. Ils en repoussent d'autres, et c'est en partie à ce choix, à cette sélection, qu'il faut attribuer les 37 milligrammes d'éléments non dosés, fournis comme éléments en suspension, bien qu'ils soient en majorité formés de chlorures alcalins très solubles; ce chiffre s'augmenterait encore si on tenait compte de ce que 100 centimètres cubes de liquide filtré représentent, non pas 100, mais environ 104 centimètres cubes de lait, d'après la richesse de ce lait en caséine. Ce lait avait été écrémé avant l'étude.

Tous les éléments dosés sont donc en partie à l'état de suspension, en partie à l'état de solution. L'étude de ces derniers est délicate. L'analyse indique bien leur présence, mais ne nous dit rien sur les combinaisons qu'ils forment entre eux. Il n'en est pas tout à fait de même pour les substances en suspension. Il y en a au moins une dont l'état ne laisse aucun doute. C'est le phosphate de chaux qu'on voit et qu'on peut recueillir par le repos. On peut donc admettre que les 0^{gr},127 de chaux de l'analyse ci-dessus sont à l'état de phosphate tribasique, et immobilisent de ce fait 0^{gr},108 d'acide phosphorique. L'alumine, le fer, la magnésie accompagnent le phosphate de chaux et sont aussi à l'état de phosphates insolubles. Cela exige encore 3 milligrammes d'acide phosphorique pour l'alumine et le sesquioxyde de fer, 7 milligrammes pour la magnésie, et en somme, avec ces hypothèses sûrement très voisines de la réalité, la composition des sels en suspension peut être écrite de la façon suivante :

Phosphates de fer et d'alumine.....	0,006
Phosphate de magnésie.....	0,013
Phosphate de chaux.....	0,235
Phosphates insolubles.....	0,254

Le phosphate de chaux en suspension dans le lait est donc mélangé de phosphates de magnésie, de fer et d'alumine.

Ce n'est pas tout. Nous avons compté ces phosphates comme tribasiques, ce qui revient à dire que nous avons attribué aux bases présentes la quantité minimum d'acide phosphorique. Nous n'en avons ainsi distribué que 0^{gr},418 sur les 0^{gr},425 trouvés, à savoir 0^{gr},108 pour le phosphate de chaux et 0^{gr},010 pour les autres phosphates. Il nous en reste donc un petit excédent

de 7 milligrammes qui nous prouve que nous avons eu raison de nous arrêter à des phosphates tribasiques, car il n'y aurait pas eu assez d'acide phosphorique pour des phosphates bibasiques. Mais nous avons à nous demander d'où provient cet excédent.

Nous verrons bientôt qu'on a toute raison de l'attribuer à un peu de phosphate soluble retenu par le caséum en même temps que les chlorures alcalins. Mais pour faire la part belle à la théorie que nous voulons discuter, nous admettrons que tout cet acide phosphorique trouvé dans les éléments en suspension provient du phosphore de la caséine en suspension restée à l'extérieur du filtre. Il y en avait environ 4 grammes pour 100 centimètres cubes de lait. D'un autre côté, les 7 milligrammes d'acide phosphorique excédent contiennent environ 3 milligrammes de phosphore. Si ce phosphore appartient tout entier à la caséine, cette substance n'en contient donc que 0,75 0/00. C'est dix fois moins que la proportion de 0,85 0/0 donnée par Hammarsten dans son *Traité de chimie physiologique*, et cette évaluation de Hammarsten est encore inférieure à celles qui l'ont précédée, inférieure surtout à celles qu'on donne pour d'autres albuminoïdes, car Ritthausen a été jusqu'à faire entrer 1,4 0/0 de phosphore dans la constitution de la légumine du pois. Il est clair que dans les études faites jusqu'ici, on a trop souvent considéré comme provenant de la molécule albuminoïde le phosphore contenu dans les phosphates de chaux ou de magnésie qui accompagnent les corps protéiques des êtres vivants. Tous ces phosphates sont colloïdaux, sont retenus avec persistance par les matières albuminoïdes, mais en sont absolument distincts. On n'a aucun droit de faire entrer dans la constitution de la molécule albuminoïde tout le phosphore qu'on y trouve à l'état de phosphate, même quand on croit l'avoir convenablement purifiée. Les faits qui précèdent montrent qu'une revision s'impose à ce point de vue pour les diverses matières albuminoïdes, et lorsqu'elle sera commencée, on verra qu'elle n'est pas moins nécessaire pour le soufre que pour le phosphore, comme je le montrerai bientôt.

Avant de commencer l'étude des éléments minéraux en suspension, je voudrais montrer d'abord que l'exemple ci-dessus n'est pas isolé. J'ai analysé de même un lait du Cantal, et voici

les nombres que j'ai trouvés. Je ne cite, pour abrégé, que la composition élémentaire.

Phosphates de fer et d'alumine.....	0,002
Phosphate de magnésie.....	0,009
Phosphate de chaux.....	0,213
Acide phosphorique en excès.....	0,014
Autres éléments non dosés.....	0,024
	<hr/>
	0,262

Les nombres sont en moyenne un peu inférieurs à ceux qui précèdent, mais j'ai quelques raisons de croire que ce lait avait été additionné d'une petite quantité d'eau. L'acide phosphorique en excès prédomine plus que dans le lait qui précède, mais nous retrouverons tout à l'heure cette question.

Les deux laits que nous venons d'étudier sont de régions bien différentes. En voici un autre, provenant d'une région voisine du Cantal, et qui se distingue des précédents en ce que les animaux qui l'ont fourni sont, au dire du producteur, soumis à une alimentation surphosphatée destinée à augmenter la proportion d'acide phosphorique dans leur lait. En ce qui concerne les éléments en suspension, la composition de ce lait était la suivante :

Phosphates de fer et d'alumine.....	0,002
— de magnésie.....	0,008
— de chaux.....	0,222
Acide phosphorique en excès.....	0,006
Autres éléments non dosés.....	0,042
	<hr/>
TOTAL.....	0,280

On voit que pour ses éléments en suspension, comprenant environ les 2/3 du phosphate, ce lait est moins riche que le lait de Dahl. Mais nous le retrouverons tout à l'heure ; contentons-nous pour le moment de remarquer que tous ces laits, de régions et d'origines diverses, présentent les plus grandes ressemblances. Nous les verrons s'accuser encore plus dans ce qui va suivre.

II

Nous en sommes arrivés à l'étude des éléments à l'état de solution. Voyons d'abord ce que fournit l'analyse pour les trois laits étudiés ci-dessus. 100 c. c. du liquide de filtration de

chacun de ces laits sur la porcelaine contiennent les quantités suivantes des éléments dosés.

	Lait de Norvège.	Lait du Cantal.	Lait phosphate.
Oxyde de fer et alumine.....	0,002	»	»
Magnésie	0,014	0,014	0,016
Chaux	0,051	0,058	0,061
Acide phosphorique.....	0,088	0,096	0,100
Autres éléments non dosés.....	0,302	0,287	0,323
TOTAUX.....	0,454	0,455	0,500

La première remarque à faire, c'est que tous ces laits filtrés contiennent un phosphate de chaux soluble. Il est même remarquable que si on fait abstraction de la magnésie et des autres bases métalliques, toujours en très petite quantité, et si on n'envisage que la chaux et l'acide phosphorique, la quantité d'acide phosphorique est à peu près double de celle qu'il faudrait pour constituer du phosphate tribasique avec toute la chaux présente.

Ainsi, avec le lait de Norvège, on trouve que 51 milligrammes de chaux exigeraient 43 milligrammes d'acide phosphorique ; il y en a 88. Pour le lait du Cantal, les chiffres sont 49 et 96. Voici deux autres laits pour lesquels on s'est contenté de doser la chaux et l'acide phosphorique.

	Lait du Cantal.	Lait de Neuchâtel- en-Bray.
Chaux.....	0,055	0,070
Acide phosphorique.....	0,090	0,134

Ce dernier lait s'était un peu acidifié pendant la filtration, ce qui a augmenté les quantités de chaux et d'acide phosphorique dans le liquide filtré. Mais on peut voir que le rapport est à peu près le même que dans les autres, et que partout les proportions de chaux et d'acide phosphorique sont telles qu'envisagées séparément, elles donneraient un corps de formule, $3 \text{ Ca O}, 2 \text{ P}^{\text{h}} \text{ O}^3$.

La formule de ce corps fait venir à l'esprit l'idée d'un mélange de phosphate bibasique et de phosphate monobasique de chaux, mais alors les cendres devraient être acides. Or elles sont constamment alcalines, et leur alcalinité, dans tous les laits du Cantal que j'ai étudiés, correspond à peu près à la moitié de l'acide phosphorique présent. Dans le cas du lait analysé plus haut, et contenant dans sa partie filtrée 0^{er},096 d'acide phos-

phorique, les cendres ont été lavées, et le liquide de lavage exigeait, pour être amené à saturation, l'équivalent de 0^{gr},045 d'acide phosphorique. Il y avait donc de l'alcali libre, soit de la potasse, soit de la soude, et comme le phosphate tribasique de soude est précisément alcalin, et se comporte vis-à-vis de la teinture de tournesol comme s'il contenait environ le tiers de sa soude à l'état libre, c'est-à-dire une molécule de soude pour une molécule d'acide phosphorique, cette coïncidence paraîtra sans doute suffisante pour faire admettre, dans les cendres du lait filtré, la présence du phosphate tribasique de soude.

La quantité de ce phosphate tribasique correspondant à 0^{gr},045 d'acide phosphorique est de 0^{gr},104. A l'aide de la réaction du chromate de potasse, on a trouvé en outre 0^{gr},140 de chlorure de sodium ; nous retrouvons donc, sur les 0^{gr},455 de cendres provenant de la calcination du liquide filtré :

Phosphate de chaux	0 ^{gr} ,107
— de soude	0 ^{gr} ,104
Chlorure de sodium	0 ^{gr} ,140
Soit en tout.....	0 ^{gr} ,351

Nous sommes donc à peu près fixés sur la nature des 3/4 des éléments salins du lait filtré. Il est bien entendu que nous ne voulons pas dire que tous ces sels existent en nature dans le lait, car le mode de groupement des éléments nous est inconnu, mais seulement que les cendres du lait se comportent, non seulement quant à leur composition, mais quant à leur réaction sur les papiers colorés, comme contenant, dans les proportions indiquées, trois sels qui sont très répandus dans le monde vivant et dans les végétaux alimentaires de la vache.

Cette interprétation à son tour n'est pas complète : elle est passible de deux objections. En premier lieu, elle fait intervenir du phosphate de soude qui est alcalin, en proportions qui ne sont pas négligeables, car elles atteignent un gramme par litre. Le lait devrait dès lors avoir une réaction alcaline ; or il est légèrement acide. De plus nous ne comprenons pas comment le phosphate tribasique de chaux de la formule ci-dessus peut être en solution dans le liquide de filtration. Cette double objection disparaît quand on se souvient que Soxhlet a démontré dans le lait l'existence d'un peu d'acide citrique, dont les proportions

sont voisines de 1 gramme par litre. C'est évidemment cet acide citrique qui, combiné avec la soude que nous retrouvons libre après calcination, maintient en solution le phosphate tribasique de chaux. Dès lors, le phosphate tribasique de soude de nos cendres repasse dans le lait à l'état de phosphate bibasique, et nous arrivons à cette conclusion que le lait analysé ci-dessus contient dans sa partie soluble des nombres à peu près égaux de molécules de phosphate tribasique de chaux, de phosphate bibasique de soude et de citrate de soude. Telle est au moins l'interprétation la plus légitime des nombres qui précèdent. Il restera à voir si elle est vraie pour tous les laits.

En résumé, si on généralise les notions fournies par cette étude, nous voyons que le lait contient, comme éléments insolubles, des phosphates de fer, d'alumine, de magnésie et de chaux. Sa partie soluble se comporte comme si elle contenait le même nombre de molécules, ou à peu près, de phosphate tribasique de chaux, de phosphate neutre de soude, et de citrate de soude. Il est très remarquable aussi que dans tous les laits étudiés, il y ait environ deux fois plus de chaux dans la partie insoluble que dans la partie soluble, et que le phosphate de chaux en solution soit environ la moitié du phosphate de chaux en suspension.

Il est clair qu'aucune de ces dernières relations ne peut être bien précise, puisque la proportion de phosphate de chaux en solution et en suspension varie suivant le degré d'acidité. Mais il n'en est pas moins curieux de les voir approximativement réalisées : cela témoigne, pour le lait, d'une constance de composition minérale sur laquelle nous allons revenir tout à l'heure.

Il y a à tirer de là une conclusion pratique, c'est que l'addition au lait d'un phosphate soluble ou insoluble troublerait cet équilibre en faisant prédominer soit le phosphate en suspension, soit le phosphate en solution. Un gramme par litre de phosphate de soude ordinaire ferait varier du simple au double le rapport du phosphate de chaux à celui du phosphate de soude dans le lait filtré. Du phosphate de chaux pulvérisé, introduit en nature dans le lait, tomberait rapidement au fond, et serait reconnaissable au microscope. On est donc armé vis-à-vis de ces deux formes de falsification.

Voyons maintenant ce que donnent, au point de vue de leurs

sels en solution, les laits phosphatés dont nous avons parlé tout à l'heure, et dans lesquels on s'est appliqué, en modifiant la nourriture de la vache, à changer la composition des cendres du lait. L'analyse citée, pp. 11 et 12, montre que ce lait est un peu plus riche que le lait du Cantal, mais dans une proportion très faible. Ce qui semble y avoir le plus augmenté, ce sont les sels solubles de potasse ou de soude. Deux autres laits, vendus comme laits phosphatés naturels, se tiennent au niveau de celui qui précède, ou même à un niveau inférieur. Je n'ai pas fait leurs analyses complètes. Je me suis contenté de déterminer la chaux et l'acide phosphorique dans le lait entier et dans le lait filtré. Il ne s'est révélé, par comparaison avec les laits normaux, aucune différence marquée dans la composition générale, ce qui met hors de doute la bonne foi des producteurs. Mais en même temps ces laits n'ont montré, en ce qui concerne leurs phosphates solubles ou insolubles, aucune supériorité sur les laits naturels. Pour qu'on en puisse juger, je donne la richesse en chaux et en acide phosphorique de 100 c. c. de chacun de ces laits, pris dans leurs flacons de vente. Je place à côté un lait du Cantal, différent de celui dont il a été question plus haut.

	Lait n° 1.	Lait n° 2.	Lait n° 3.	Lait du Cantal.
Chaux.....	0,182	0,189	0,168	0,182
Acide phosphorique.....	0,227	0,224	0,194	0,220
Éléments non dosés.....	0,347	0,337	0,388	0,346
TOTAUX.....	0,756	0,750	0,750	0,748

Deux de ces laits phosphatés sont un peu plus riches que celui du Cantal, un est plus pauvre. Mais tous sont infidèles aux promesses de leur étiquette; aucun ne justifie les hauts prix auxquels ils sont vendus, et quelle que soit la conscience avec laquelle les producteurs font avaler à leurs vaches des phosphates pulvérisés, il n'est aucun de ces laits qui ne puisse être argué, devant un tribunal, de tromperie sur la nature de la marchandise vendue.

Rien que le chiffre relatif à la proportion de cendres avertit du reste que la composition de ces laits n'est pas éloignée de la composition normale; ce chiffre de 0,75 0/0 de cendres présente une grande constance dans les laits que j'ai étudiés, et dont j'étais sûr. Ses variations sont beaucoup plus faibles que celles de l'un quelconque des autres éléments du lait, si bien que ce

serait peut-être par l'étude des cendres qu'on serait le plus sûr d'atteindre les falsifications. Cette régularité dans la richesse en cendres se retrouve du reste dans la composition de ces cendres. Pour le démontrer, je rassemble dans un tableau commun tous les laits analysés dans le présent travail, phosphatés ou non. Et comme la discussion faite ci-dessus nous autorise à considérer comme étant à l'état de phosphate de chaux toute la chaux contenue dans le lait, j'ai inscrit ce sel dans mes analyses. L'acide phosphorique excédent est en grande partie, nous le savons, à l'état de phosphate d'alumine, de fer, de magnésie et de soude; quant aux autres matières minérales, elles sont comptées en bloc dans tous les laits, même dans ceux pour lesquels l'analyse en a été faite.

	Lait du Cantal.	Lait de Norvège.	Lait de Normandie.	Lait phosphaté 1.	Lait phosphaté 2.
Phosphate de chaux.....	0,337	0,329	0,311	0,336	0,350
Ac. phosph. en excès.....	0,063	0,062	0,051	0,073	0,063
Autres sels.....	0,346	0,379	0,388	0,357	0,337
TOTAUX.....	0,748	0,750	0,750	0,766	0,750

Des laits de diverses provenances et ayant subi des traitements divers ont donc de grandes analogies de composition. Je pourrais trouver d'autres exemples, en puisant dans les travaux déjà publiés sur la matière, dans ceux de Söldner, en particulier, qui a poussé le détail des analyses plus loin qu'aucun de ceux qui l'ont précédé, et avec lequel je m'accorde sur les chiffres moyens fournis par l'analyse. Si je m'en sépare tout à fait au point de vue de l'interprétation à donner à ces chiffres, j'attribue la différence à ce que Söldner, au lieu d'opérer comparativement sur le lait entier et sur le lait filtré à la bougie, a opéré sur le lait et sur son sérum après coagulation, ce qui change, dans une large mesure, la distribution des éléments en solution et en suspension.

Il me reste, pour terminer, à relier les résultats qui précèdent à ceux de mes travaux antérieurs dans lesquels je me contentais de précipiter par l'ammoniaque la liqueur acide obtenue en dissolvant les cendres dans l'acide acétique additionné d'une goutte ou deux d'acide chlorhydrique étendu. Dans les trois laits dont l'étude complète a été faite, on aurait dû avior, dans ce précipité :

	Lait du Cantal.	Lait de Norvège.	Lait phosphaté.
Phosphate de fer et d'alumine.....	0,002	0,010	0,002
— de magnésie.....	0,039	0,037	0,042
— de chaux.....	0,320	0,329	0,336
TOTAUX.....	0,361	0,376	0,380

Or, le traitement par l'ammoniaque a donné les nombres suivants :

0,350 0,375 0,375

Le précipité par l'ammoniaque, obtenu dans les conditions indiquées, contient donc des phosphates de magnésie, de fer et d'alumine mélangés au phosphate de chaux. On peut donc se contenter de cette méthode simple de dosage pour apprécier la rapidité avec laquelle les phosphates en suspension se dissolvent dans un lait qui s'acidifie peu à peu. En recueillant pour ce lait le liquide qui s'écoule au travers du filtre, on peut assister à l'augmentation progressive du précipité obtenu par l'ammoniaque dans le résidu de la calcination dissous dans un acide, et quand ce précipité est devenu aussi abondant que dans le lait total, c'est que tout ce qui était en suspension est arrivé à l'état de solution. Avec un lait de Paris, j'ai trouvé qu'il n'y avait plus que des traces de phosphate en suspension, quand le liquide filtré contenait seulement 0^{gr},45 d'acide lactique par litre. Le lait devait en contenir un peu plus ; mais n'importe, ces chiffres témoignent qu'il suffit d'une très faible acidité pour changer notablement le rapport entre le phosphate en suspension et le phosphate dissous ; et voilà pourquoi il est nécessaire de suivre la recommandation que j'ai faite plus haut, de n'opérer que sur du lait maintenu au froid ou gardé stérile.

ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE DU CHOLÉRA

OBSERVÉ A L'HOPITAL SAINT-ANTOINE EN 1892

PAR MM. LESAGE ET MACAIGNE.

Durant la dernière épidémie de choléra, qui sévit sur Paris et ses environs, 251 malades furent soignés à l'hôpital Saint-Antoine, dans le service de M. le professeur Hayem.

Nous avons pu étudier, au point de vue bactériologique, 201 de ces cholériques. Nous diviserons notre travail en trois parties : dans un premier chapitre, nous étudierons les caractères des matières fécales, la nature des microbes qu'elles contenaient, ainsi que leurs formes et leurs associations ; dans un second chapitre, nous relaterons l'analyse des cas suivis de guérison, et dans un troisième chapitre, l'analyse des cas suivis de mort, soit dans la période d'algidité, soit dans la période de réaction.

I

CARACTÈRES DES MATIÈRES FÉCALES

Celles-ci présentaient les caractères suivants, dans ces 201 cas :

52 fois, elles étaient riziformes, tantôt très aqueuses, contenant en suspension des flocons grisâtres, tantôt formées d'une bouillie grise, dont les éléments épithéliaux étaient la base ;

56 fois, elles étaient vertes, biliaires, cette couleur étant due à la biliverdine, ainsi que nous avons pu nous en assurer par les réactions chimiques ;

83 fois, elles n'avaient aucun caractère spécial : elles étaient de coloration jaune et d'aspect fréquemment glaireux ;

40 fois, elles présentaient une teinte rouge, dysentérique, due à du sang en nature.

La réaction de ces matières, quel qu'en soit l'aspect, est dans la majorité des cas *légèrement alcaline*, quelquefois neutre, exceptionnellement légèrement acide au début de la maladie.

Nature des microbes. — Quel que soit l'aspect de ces matières fécales, l'étude bactériologique montre que la faune microbienne varie et n'a *aucune relation* avec cette coloration.

Nous pouvons cependant réunir sous quatre types principaux les divers microbes observés chez ces cholériques.

Mais auparavant, ajoutons que *jamais le bacille virgule n'a été observé en culture pure*, dans ces matières fécales. Dans beaucoup de cas, il est vrai, ce microbe y existait en grande quantité, mais *toujours* avec lui on notait la présence d'autres microbes.

1^{er} type. — Coexistence du *B. virgule* et du *B. coli*, à l'exclusion de tout autre microbe.

2^e type. — Coexistence du *B. virgule*, du *B. coli*, et d'autres microbes, en quantité minime par rapport aux deux premiers.

3^e type. — Présence du *B. coli pur*, à l'exclusion de tout autre microbe et du *B. virgule*.

4^e type. — Coexistence du *B. coli* et de divers microbes, à l'exclusion du *B. virgule*.

Dans les deux premiers groupes, le *B. virgule* existait en quantité variable : tantôt prédominant sur tous les autres, *tenant* à la culture pure, tantôt en quantité moyenne, tantôt en quantité minime, et dans ce cas, sa recherche est des plus difficiles, tant sur les lamelles qu'en culture.

De l'absence de relation entre le nombre des bacilles virgules et la gravité de la maladie. Il n'existe aucun rapport entre le nombre de bacilles virgules et la gravité de la maladie.

Ainsi, en prenant la totalité des cas observés, sur 201 cas, tant suivis de guérison que de mort, nous en avons noté 20 où le *B. virgule* était en très grande quantité, et qui ont donné 14 guérisons et 6 morts.

109 fois, ce bacille était en quantité moyenne : 61 guérisons et 48 morts.

24 fois ce microbe était en petite quantité (recherche difficile) : 16 guérisons et 8 morts.

On voit donc qu'il n'existe aucun rapport entre le nombre des bacilles virgules et la gravité de la maladie. De même, au sujet de la forme clinique et de la durée de l'affection. Rien n'est

fixe à ce sujet. Nous avons observé des formes algides prolongées, des formes foudroyantes et des formes algides courtes, chacune avec beaucoup ou moyennement de *B. virgules*.

Bien plus, nous avons observé des formes légères de choléra (3 fois), de véritables diarrhées cholériformes, qui présentaient une très grande quantité de bacilles virgules, à tel point que la lamelle en était couverte, et que l'on aurait pu croire à une culture pure de ce microbe. Inversement, comme nous le disons plus bas, dans bon nombre de décès cholériques, nous avons noté peu de *B. virgules*.

De cela nous pouvons conclure : a) que le nombre de ces microbes n'est pas en relation avec la gravité de la maladie ; b) que l'on observe des cas graves ou légers, avec une grande quantité de ces bacilles ; c) et des cas graves ou bénins, avec ce microbe en minime quantité.

De ces faits, nous rapprochons volontiers les expériences récentes que MM. von Pettenkofer et Emmerich¹ ont faites sur eux-mêmes, et qui ont consisté dans l'ingestion de cultures pures de bacilles virgules venant de Hambourg. M. von Pettenkofer a avalé, deux heures et demie après son premier déjeuner, 1 centimètre cube d'une culture pure récente de *B. virgules* dans un verre d'eau contenant 1 gramme de bicarbonate de soude, destiné à neutraliser l'acide chlorhydrique, qui, se trouvant encore dans l'estomac, aurait pu empêcher le développement des bacilles. A la suite de cette ingestion, il ne survint chez lui qu'une légère diarrhée avec gargouillements, mais sans coliques, sans nausées ni vomissements, et sans aucun trouble de l'état général. Et pourtant l'examen bactériologique des déjections y décela la présence de bacilles cholériques en grand nombre. Mêmes résultats dans l'expérience de Emmerich.

Ces savants concluent de ces faits, que le bacille virgule de Koch ne produit pas, en se développant dans l'intestin, le virus spécifique du choléra asiatique. Guttman relate aussi des faits de diarrhée simple contenant des bacilles virgules nombreux.

Ces faits montrent qu'en matière de choléra, il ne faut pas compter avec la quantité de bacilles, et qu'une culture abondante peut ne donner qu'une diarrhée simple, alors qu'une cul-

1. Société de médecine de Berlin, 1892.

ture légère peut provoquer des accidents graves. Tout semble dépendre de la virulence et non du nombre des microbes présents. De cela n'avons-nous pas un exemple net, avec le *B. coli* qui, en prenant de la virulence, peut occasionner de graves accidents.

Il y a donc, dans le choléra avec présence du bacille virgule, une inconnue qui n'est pas encore dégagée. Si la gravité de la maladie n'a aucun rapport avec le nombre de *B. virgules*, de quoi ressortit-elle? Est-ce de la virulence variable de ce microbe? Est-ce de l'association du *B. virgule* et du *B. coli*, ou du staphylocoque, ou du streptocoque? Est-ce de la virulence variable de chacun de ces microbes mélangés? Nous l'ignorons totalement.

En tout cas, le fait qui nous a frappé le plus est tiré de l'observation clinique. La gravité, d'une façon générale (à part la question du choléra sec), est fréquemment en relation intime avec l'intensité de la diarrhée et des vomissements, et à propos de ces derniers, dépend non pas tant de la quantité de liquide rejeté, que des efforts et des troubles secondaires qu'ils entraînent. Nous n'étudierons pas ces faits cliniques dans ce travail, qui est purement bactériologique. Notre conclusion actuelle est qu'il n'existe aucun rapport entre le nombre des bacilles virgules et la gravité de la maladie. Ceci est un point démontré, tant par nos recherches que par les expériences récentes de Pettenkofer, Emmerich et Guttman. L'explication de ces faits sera fournie probablement par l'étude de la virulence du bacille virgule. Virulence et végétabilité sont en effet deux choses différentes, pouvant exister séparément.

De l'absence du bacille virgule dans un certain nombre de cas. — Sur 201 cas, nous avons constaté 43 fois l'absence du bacille virgule, bien que nous l'ayons recherché avec soin et à plusieurs reprises chaque fois. Et ces cas ont été suivis de mort ou de guérison, sans qu'au point de vue clinique, on puisse les différencier des précédents. Nous avons observé des formes graves ou légères, sans bacille virgule, comme nous avons plus haut relaté des cas graves ou légers avec présence de ce microbe. Tantôt nous trouvons le *B. coli* seul (15 cas); tantôt ce microbe associé à du staphylocoque, à du streptocoque, à du bacille pyocyanique, pour ne citer que les principaux (30 cas).

De quoi relève, dans ces cas, la maladie cholérique? Quand

le *B. coli* existe seul, nous pouvons admettre que les cas de choléra de cette variété sont, en tous points, identiques aux cas étudiés dans ces dernières années¹, et intitulés : choléra à *B. coli*. Nous ne revenons pas sur ces faits, que l'on attribue à une augmentation de la virulence du *B. coli* normal. Mais pour les formes polybactériennes de choléra sans virgule, à quoi est due la maladie? Au *B. coli*, au staphylocoque, au streptocoque? Nous l'ignorons. Peut-être dans ces cas, le bacille virgule avait-il une vitalité faible, et avait-il disparu au moment de l'examen. Ce qu'il faut retenir de ces faits, c'est que ces variétés de choléra sans *B. virgule* peuvent être légers ou graves, suivis de guérison ou de mort.

Nous voulons insister d'autre part sur ce qui suit : les cas de choléra sans *B. virgule* ont été observés *en même temps et durant toute l'épidémie*, à côté des cas où existait le *B. virgule*. La clinique était impuissante à distinguer ces deux variétés de choléra; seul l'examen bactériologique pouvait établir la distinction.

Et ceci a son importance. On a dit en effet : le choléra est d'origine asiatique, quand le *B. virgule* se rencontre dans l'intestin. Il est choléra du pays, ou *nostras*, quand ce microbe manque. S'il en est ainsi, quelle est la nature de l'épidémie que nous avons observée? Ces mots d'asiatique, de *nostras*, masquent notre ignorance, et au lieu de dire : l'épidémie de 1892 est un mélange de choléra asiatique et de choléra *nostras*, comme nous pourrions le déduire de nos recherches, disons simplement : cette épidémie est une épidémie de choléra, qui semble relever de plusieurs types bactériens : choléra à *B. virgule*, choléra à *B. coli*, choléra polybactérien, toutes variétés que la clinique ne nous permet pas de dépister, car toutes se ressemblent dans leurs diverses formes, foudroyantes, légères et graves.

Étude des vomissements. — On y trouve le plus souvent le *B. coli*, assez souvent le *B. virgule*, et parfois le *B. fluorescens*, qui donne une teinte verte aux déjections.

Morphologie. — Le bacille virgule, que nous avons observé, affecte des formes variables. Tantôt petit et court, tantôt allongé,

1. Macaigne. Étude sur le *Bacterium coli*, 1892. — Lesage. *Société médicale des hôpitaux*, 1892.

il présente une épaisseur variable, mais il affecte toujours une disposition *arquée*, soit en son milieu, soit à une de ses extrémités. En un mot, il est variable au point de vue de sa largeur et de sa longueur, mais malgré ces variations, il reste *bacille virgule* dans tous les cas. Si nous nous contentions de la forme, nous serions obligés, d'après nos examens, de faire six variétés de bacille virgule. La forme n'a aucune valeur dans l'espèce, sauf toutefois la disposition *arquée*.

Dans un certain nombre de cas, nous avons trouvé le bacille virgule en S; dans d'autres, la forme allongée, filamenteuse avec ondulations.

Le bacille virgule a toujours présenté ses caractères classiques de culture, qui sont stables. Cependant dans quelques cas le bacille présentait une vitalité faible, suivie de mort rapide.

Même polymorphisme pour le *B. coli*, qui ne présente ici aucun caractère spécial. Cependant, dans bon nombre de cas, le *B. coli* isolé poussait à peine, et donnait de faibles cultures.

Parmi les microbes que l'on rencontre unis au précédent, avec ou sans *B. virgule*, nous signalons le plus fréquent, le *staphylococcus albus*, rarement l'*aureus*. Avec le *B. coli* et le *B. virgule*, on peut dire que c'est le microbe le plus fréquemment observé chez les cholériques. Il ne présente aucun caractère spécial.

Signalons, dans les cas de choléra polybactérien, la présence, outre le *B. coli* et le *staphylococcus*, qui forment la base de la bactériologie du choléra, le streptocoque à gros grains, qui dans un cas était très abondant (ce cas peut être rapproché de faits observés en Allemagne, où on ne trouva que le streptocoque). Dans notre observation, il était accompagné par le *B. coli*.

Signalons la présence dans quelques cas, du *B. pyocyanique*, du *B. fluorescens liquefaciens*, du *B. fluorescens non liquefaciens* ou *putridus*. Ces divers microbes existaient en minime quantité, dans quelques cas, surtout dans les formes polybactériennes.

Isolement. — Le *B. virgule*, dans les cas où il est très abondant, est facile à isoler; mais il n'en est pas de même s'il l'est peu. Dans ce cas, son isolement nécessite un travail continu et rapide. En effet, il faut alors compter avec la rapidité et l'intensité de la culture du *B. coli*, d'une part, et d'autre part avec les microbes liquéfiant (staphylococcus, etc.), qui entravent la culture du *B. virgule*.

En premier lieu, nous avons suivi la méthode classique : rejeter le liquide diarrhéique, où le *B. virgule* est noyé dans la masse des autres microbes, et ne prendre, pour la culture, que les grumeaux et les flocons riziformes. Nous avons employé la méthode de Koch : isolement par dilution ; mais les résultats que nous avons obtenus sont inférieurs aux résultats que nous donne la méthode dite de Schöttelius. Celle-ci nous paraît préférable, surtout durant une épidémie, pendant laquelle on est surchargé de travail.

Nous avons employé ce procédé de la manière suivante :

Dans un cristalliseur ou verre à pied, on verse *un tiers* de matières fécales (parties solides, grains riziformes), et *deux tiers* de bouillon ordinaire ou de jus de viande légèrement alcalin. On place le tout à l'étuve à 37°. Le bacille virgule étant très avide d'oxygène, donne *rapidement*, en 6 à 12 heures, une pellicule superficielle qui est formée en grande partie de bacilles virgules, quelquefois même d'une culture pure. A ce moment, on prend une partie *minime* de ce voile, et on l'ensemence alors par étalement, avec les précautions d'asepsie requises, soit sur gélatine, soit sur gélose. Cette dernière est préférable pour le premier isolement. On obtient ainsi des cultures de bacilles de Koch.

Nous avons fréquemment fait une seconde épreuve, dite de Schöttelius, en prenant la totalité du voile et en le mélangeant avec du bouillon, suivant le procédé sus-indiqué. Ce second voile ainsi obtenu est souvent *plus pur* que le premier.

Il est bon de reprendre le voile dans les douze heures, sinon d'autres microbes (*B. coli*, etc.) viennent infecter la culture de *B. virgules*. Une pellicule, bonne à la douzième heure, perd de ses qualités dans la suite. Tel est le procédé qui nous paraît être le meilleur, dans l'état actuel des choses.

II

ÉTUDE DES CAS DE CHOLÉRA SUIVIS DE GUÉRISON

Dans le chapitre précédent, nous sommes restés dans les généralités qui s'appliquent à toute notre étude. Nous allons maintenant étudier en détail les cas de choléra suivis de guéri-

son ou de mort. Nous avons étudié 93 cas suivis de décès et 106 cas suivis de guérison. Ces 106 cas se divisent de la façon suivante :

<i>B. virgule</i> et <i>B. coli</i>	29 cas
<i>B. virgule</i> , <i>B. coli</i> et divers.....	62 —
<i>B. coli</i> pur.....	3 —
<i>B. coli</i> et divers, sans <i>B. virgule</i>	12 —

D'après ce tableau, on voit que le bacille virgule a été observé dans la majorité des cas. Ainsi que nous l'avons dit plus haut, ce bacille est en quantité variable et, dans 3 cas, il existait en *très grande quantité*.

III

ÉTUDE DES CAS MORTELS

Nous avons étudié 93 cas suivis de mort ; 47 cas ont été étudiés *seulement* au point de vue de l'intestin. Aucune recherche n'a pu être faite, faute de temps, sur l'état d'envahissement des autres organes. Ces 47 cas se décomposent de la façon suivante :

<i>B. virgule</i> et <i>B. coli</i> seul, ou uni à divers microbes	34 cas
<i>B. coli</i> pur.....	7 —
<i>B. coli</i> et divers, sans <i>bacille virgule</i>	6 —

48 cas ont été étudiés plus complètement, c'est-à-dire que nous avons recherché l'état de l'envahissement, par les microbes, des organes en dehors de l'intestin. Les résultats varient, suivant que l'autopsie a été faite *de suite après la mort* (temps nécessaire pour transporter le cadavre à l'amphithéâtre), ou *quelques heures après* ; d'autre part, suivant que le cholérique est mort en *période d'algidité* ou en *période de réaction*. Sur ces 48 cas, 14 étaient des cholériques morts en algidité et autopsiés *de suite après la mort*. L'intestin contenait :

- 7 fois le *B. virgule* uni au *B. coli* ou à divers microbes ;
- 3 fois le *B. coli* pur ;
- 4 fois le *B. coli* et divers microbes sans *B. virgule*.

Quel que soit l'état bactériologique de l'intestin, les organes ne présentaient aucun microbe décelable par les procédés ordi-

naires. En un mot, *aucun envahissement cadavérique* (bile, foie, sang, rate). L'intestin est le seul milieu où existent les microbes.

Donc, à la période d'algidité et à la mort, il n'existe pas d'envahissement des organes, quelle que soit la durée de l'algidité.

En regard de ces cas, voici 31 autopsies de cholériques morts en période d'algidité, faites à partir de deux heures après la mort. Ces 31 cas se divisent de la façon suivante :

21 fois le *B. virgule* était uni au *B. coli* seul ou à d'autres microbes ;

8 fois on constatait le *B. coli* et divers microbes, sans *B. virgule* ;

2 fois le *B. coli* existait seul.

Quand l'autopsie a été pratiquée 2 heures après la mort et avant 4 heures (13 cas), nous avons trouvé un envahissement cadavérique localisé au foie et à la bile, alors que les autres organes étaient indemnes de toute culture. Dans ces cas, le foie et la bile contenaient le *B. coli* ; dans deux cas, la bile était stérile cependant, alors que le foie était envahi, comme si la voie sanguine était plus rapide que la voie biliaire. Après 4 heures (18 cas), nous avons toujours noté l'envahissement cadavérique *de tous les organes* ; 8 fois par le *B. coli* seul ; 3 fois par le *B. coli* et le *staphylocoque* ; 1 fois par le *B. coli* et le *B. pyocyannique* ; 3 fois, outre ces divers microbes, nous avons noté l'envahissement *total* du corps par le *B. virgule*. Dans 3 autres cas, alors que l'envahissement total du corps (sauf la bile) était dû au *B. coli*, nous avons noté un envahissement, localisé à la bile, exclusivement par le *B. virgule*, qui était en culture pure.

Concluons en disant : Chez les cholériques algides, l'envahissement commence, dès deux heures après la mort, par le foie et la rate, puis devient total dès la quatrième heure. Dans cet envahissement cadavérique, le *B. coli* et le *staphylocoque* sont les microbes rencontrés, soit isolément, soit réunis, quel que soit le milieu bactériologique de l'intestin.

En tout cas, les microbes d'envahissement étaient *toujours* en grande quantité dans l'intestin et appartiennent au groupe des microbes mobiles.

Quant au bacille virgule, on le trouve *exceptionnellement* dans les organes, en dehors de l'intestin. La bile en contient parfois,

mais rarement. On voit donc par ces faits l'importance du *temps écoulé depuis la mort*, pour l'étude de l'envahissement cadavérique.

Étude de la réaction cholérique. — Nous avons pu pratiquer, de suite après la mort, trois autopsies de cholériques morts *en période de réaction*, et, dans chacun de ces cas, nous avons observé l'envahissement des divers organes par le *B. coli*. Or, nous avons vu plus haut que le cholérique mort en état d'algidité ne présentait aucun envahissement des organes quand l'autopsie était pratiquée immédiatement après la mort.

Qu'il y ait ou non du *B. virgule* dans l'intestin, les organes, durant la période de réaction, sont envahis par le *B. coli*. C'est de cette infection secondaire que paraissent relever les symptômes dits de réaction (fièvre, etc.). Durant la vie, nous avons étudié le sang de ces malades : nous n'avons pu y déceler la présence de microbes.

CONCLUSIONS

1° Il a existé, dans l'épidémie de choléra observée à l'hôpital Saint-Antoine, plusieurs variétés microbiennes de choléra qu'il était impossible de distinguer cliniquement (choléra à *B. virgule*, choléra à *B. coli*, choléra polybactérien sans *B. virgule*);

2° Dans la première variété, le *B. virgule* n'a jamais été observé pur. Il était uni au *B. coli* ou à divers autres microbes;

3° Un certain nombre de cas peuvent être rapprochés des cas décrits sous le nom de choléra à *B. coli*;

4° Il n'existe aucun rapport entre le nombre des bacilles virgules et la gravité de la maladie. Une diarrhée simple peut contenir une culture abondante de bacilles virgules;

5° La gravité et la légèreté de la maladie sont observées dans ces diverses variétés bactériologiques. La présence du bacille virgule n'est pas nécessaire;

6° L'envahissement cadavérique se fait progressivement dès les premières heures après la mort (choléra algide);

7° La réaction cholérique paraît être une infection secondaire par le *B. coli*, dont on constate la présence immédiatement après la mort dans les divers organes.

SUR LES ÉCHANGES D'ACIDE CARBONIQUE ET D'OXYGÈNE

ENTRE LES PLANTES ET L'ATMOSPHÈRE

PAR M. TH. SCHLOESING FILS ⁽¹⁾

On a beaucoup étudié les échanges d'acide carbonique et d'oxygène ayant lieu entre les plantes et l'atmosphère. D'éminents physiologistes ont produit sur ce sujet, il y a longtemps déjà et aussi il y a quelques années, des travaux considérables et bien connus, dans lesquels ils ont tantôt cherché à distinguer la respiration et l'assimilation de carbone, tantôt considéré l'ensemble de leurs effets. Leurs expériences ont toujours été, à ma connaissance, exécutées non sur des plantes entières, mais sur des parties de plantes, plus ou moins étendues, le plus souvent séparées des sujets auxquels elles appartenaient; très généralement elles n'ont eu et n'ont pu avoir qu'une durée fort limitée; de plus il est arrivé qu'elles ont conduit à des résultats contradictoires. Pour ces raisons, il ne serait pas possible d'en tirer la réponse à une question qui intéresse à un haut degré la nutrition végétale: quelle est, pour une plante entière et pour une longue période ou même toute la durée de son existence, la résultante des échanges d'acide carbonique et d'oxygène qu'elle effectue avec l'air ambiant? Combien d'oxygène dégage-t-elle pour un volume donné d'acide carbonique qu'elle fait disparaître?

Telle est la question à laquelle se rapportent les recherches qui vont être exposées. Je l'ai abordée par la méthode qui m'a paru la plus directe et qui consiste à faire vivre des plantes en vases clos et à étudier les variations de l'acide carbonique et de l'oxygène enfermés avec elles.

EXPÉRIENCES I ET II.

J'ai d'abord employé aux expériences l'appareil qui nous a servi, à M. Laurent et moi, dans nos recherches sur la fixation

1. *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. CXV, p. 881 et 1017.

de l'azote libre par les plantes ¹. Mais, dans ces recherches, on n'avait à mesurer, en fait de gaz, que l'azote. Ici, il fallait aussi déterminer l'oxygène et l'acide carbonique. De là de notables modifications dans la manière d'opérer.

Les graines une fois semées, l'appareil est clos hermétiquement et le vide y est fait. On ne peut, pour en enlever les dernières traces d'air, recourir à des lavages à l'acide carbonique, comme dans les recherches qui viennent d'être rappelées, parce qu'il serait plus fâcheux encore d'y laisser de l'acide carbonique que de l'air. On pousse donc le vide aussi loin que possible (et, avec les pompes à mercure dont je dispose, il est possible de ne laisser ainsi dans l'appareil qu'une bien faible quantité d'air), puis on purge avec la vapeur d'eau dégagée par le sol à la température de 28 à 30°. On introduit ensuite des volumes rigoureusement mesurés d'oxygène et d'azote, dans la proportion d'environ 20 du premier gaz pour 80 du second, et finalement une petite quantité, également bien déterminée, d'acide carbonique.

La végétation apparaît. Dès que les parties vertes ont pris un développement sensible, on commence à surveiller par de fréquentes analyses la composition de l'atmosphère interne ². Par les additions d'acide carbonique et des absorptions d'oxygène, dont les analyses indiquent l'opportunité, on la maintient dans les limites convenables pour la vie végétale. L'acide carbonique introduit est mesuré avec une très grande précision. Je me suis servi à cet effet, d'un petit volumètre spécial, d'une capacité d'environ 190 c. c., permettant d'évaluer le gaz à une très petite fraction de centimètre cube près.

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, février 1892. — Au fond d'une grande allonge en verre se trouve le sol sur lequel se développeront les plantes au cours de l'expérience. L'allonge communique d'une part avec la partie supérieure d'une trompe à mercure, d'autre part avec un tube de Bohême renfermant de la tourture de cuivre et placé au-dessus d'une rampe à gaz; ce tube est lui-même relié avec une sorte de longue cloche qui coiffe l'orifice inférieur de la trompe. Les gaz puisés à la partie supérieure de l'allonge sont appelés dans la trompe, quand on fait fonctionner celle-ci, et renvoyés ensuite à travers le tube à cuivre à la partie inférieure de l'allonge; si le tube à cuivre est alors chauffé, de l'oxygène s'absorbe; on fait ainsi disparaître l'excès de ce gaz produit par la végétation. Quant à l'acide carbonique nécessaire aux plantes, on l'introduit, quand il y a lieu, par le bas de la longue cloche.

2. Les analyses sont faites sur des échantillons d'environ 1 c. c. de gaz; elles consistent à doser l'acide carbonique et l'oxygène; après chacune d'elles, on fait repasser dans l'appareil l'azote restant.

A la fin d'une expérience, on extrait les gaz contenus dans l'appareil et l'on achève le vide en s'aidant, comme au début, de la vapeur d'eau émise à 30° par le sol. On recueille et l'on mesure avec la plus grande précision la totalité des gaz; puis on détermine leur composition par des analyses eudiométriques très soignées.

Une partie de l'oxygène ayant appartenu à l'atmosphère interne se trouve finalement fixée sur le cuivre. Il faut la connaître avec précision. Dans ce but, le tube à cuivre est séparé de l'appareil; son contenu est débarrassé de toute humidité par un courant d'azote sec aidé d'une douce chaleur; puis l'oxyde de cuivre est réduit par l'hydrogène pur et l'eau formée est recueillie et pesée exactement; du poids de cette eau, on déduit celui de l'oxygène qui avait été retenu par le métal. On vérifie que le tube à cuivre a même poids, après la réduction de l'oxyde, qu'au moment où il a été mis en expérience. A ce propos, on doit rappeler que le cuivre s'oxyde assez rapidement au contact de l'air humide; il est bon, pour les pesées qu'on a à faire du tube à cuivre au début et à la fin, de ne pas perdre le fait de vue. Pendant l'expérience, le cuivre a pu fixer non seulement de l'oxygène, mais aussi un peu d'acide carbonique; cet acide ne doit pas être négligé. On le recueille lors de la réduction finale, en faisant passer l'hydrogène dans un petit absorbeur à potasse, placé à la suite du tube à cuivre, et l'on en détermine le poids.

Les gaz, qui ont été introduits dans l'appareil, ont éprouvé le contact du mercure. Ils sont loin de s'être pour cela chargés d'une quantité sensible de vapeur de ce métal. Il est néanmoins prudent d'absorber cette vapeur, pour éviter sa fâcheuse influence sur la végétation. A cet effet un bâton de soufre, d'environ 20 grammes, a été placé à l'intérieur du récipient à culture; il était suspendu par un fil de platine à l'un des tubes existant dans ce récipient. Les plantes n'ont jamais paru souffrir de la présence de vapeur mercurielle. Mais on pourrait craindre que le soufre, subissant une faible oxydation, ne consommât de l'oxygène gazeux. Afin d'être fixé sur ce point, on a pesé, au début et à la fin, le bâton de soufre. On a constaté que son poids avait varié de moins de 1^{mer},5 (une fois en plus, l'autre fois en moins). Le soufre a donc été sans action sensible sur le volume de l'oxygène.

D'après les résultats des différentes déterminations effectuées, il est facile de connaître, à la fin d'une expérience, la quantité totale de l'acide carbonique pris par les plantes et celle de l'oxygène qu'elles ont émis; on a le premier volume en retranchant de l'acide carbonique total introduit celui qu'on retrouve à la fin dans l'appareil, et le second en retranchant l'oxygène introduit de la somme obtenue en ajoutant celui qu'on retrouve finalement à l'état gazeux et celui que le cuivre a fixé. Mais une condition doit être satisfaite; c'est que le sol ne soit pas intervenu pour modifier la composition de l'atmosphère gazeuse en donnant, par combustion lente de sa matière organique, de l'acide carbonique, et absorbant de l'oxygène. C'est pourquoi j'ai pris comme sol un sable quartzeux presque absolument exempt de matière organique¹.

Dans chacune des expériences I et II, on a mis en œuvre 2,500 grammes de ce sable. On y a mêlé intimement 2^{sr},5 de carbonate de chaux et 3^{sr},5 de phosphate bicalcique, puis 350 c. c. d'une solution nutritive contenant des sulfates de potassium et de magnésium, une très petite quantité de sulfate ferreux et de l'azotate de potassium. Avant l'addition de cette solution, on a prélevé sur le sable 100 grammes, qui ont été stérilisés par la chaleur et qu'on a, après l'introduction des graines, étendus sur le sol en une couche uniforme; cette précaution avait pour but d'empêcher la production des algues ou autres végétaux inférieurs à la surface du sol.

En réalité, le sol n'a pas été tout à fait sans action sur l'atmosphère interne. Une recherche ultérieure (expérience IV) a montré que, pendant les six semaines qu'ont duré ces expériences, il avait dû fournir à très peu près 12 c. c. d'acide carbonique et faire disparaître autant d'oxygène; j'ai tenu compte, dans les chiffres donnés ci-après, de cette petite correction.

Les premières expériences faites (I et II) ont porté sur le cresson à larges feuilles et la houque laineuse. Voici les chiffres qui s'y rapportent.

1. Sable de Bonnevault, lavé à l'acide chlorhydrique, puis à l'eau distillée et chauffé vers 100°. Ce sable renferme à très peu près 99.0/0 de silice (débris de cristal de roche), un peu de fer, de chaux et des traces de magnésie.

	I		II
	Cresson à larges feuilles, semé le 28 avril, récolté le 14 juin.		Houque laineuse, semée le 28 avril, récoltée le 14 juin.
Poids des graines.....	43 ^{mgr} ,7		50 ^{mgr}
Azote gazeux mis en œuvre.	2.815 ^{cc}		2.725 ^{cc}
CO ² introduit	1.374 ^{cc} ,8		1.546 ^{cc} ,0
— dégagé par le sol.....	12 ^{cc} ,0	1.383 ^{cc} ,8	12 ^{cc} ,0
— extrait		212 ^{cc} ,3	57 ^{cc} ,0
— disparu par le fait des plantes..	1.171 ^{cc} ,5		1.501 ^{cc} ,0
O extrait à l'état gazeux..	1.142 ^{cc} ,0		971 ^{cc} ,4
— fixé par le cuivre.....	1.325 ^{cc} ,4	2.479 ^{cc} ,4	1.763 ^{cc} ,8
— absorbé par le sol	12 ^{cc} ,0		12 ^{cc} ,0
— introduit au début.....		915 ^{cc} ,7	911 ^{cc} ,2
— apparu par le fait des plantes.....	1.563 ^{cc} ,7		1.836 ^{cc} ,0
vol. CO ² disparu			
vol. O apparu	0,75		0,82

Les volumes 212^{cc},3 et 57^{cc},0 d'acide carbonique extrait comprennent les petites quantités de 0^{cc},12 et 0^{cc},04 de gaz absorbées dans les analyses de l'atmosphère interne. Pareillement, les volumes 1,142^{cc},0 et 971^{cc},4 d'oxygène extrait comprennent 1^{cc},96 et 1^{cc},50 perdus par la même cause.

Comme conclusion des chiffres figurant dans le tableau qui précède, bornons-nous à constater, pour le moment, la différence existant entre l'acide carbonique disparu et l'oxygène apparu par le fait des plantes expérimentées au bout des six premières semaines de leur végétation; le volume du premier gaz a été très notablement inférieur à celui du second.

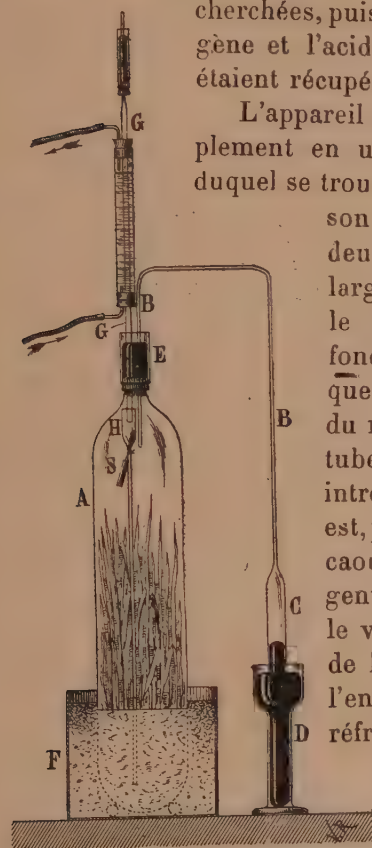
EXPÉRIENCES III ET IV.

J'ai fait une nouvelle recherche sur la Houque laineuse avec l'idée d'en tirer des résultats plus complets.

J'ai adopté une disposition telle qu'on pût obtenir, non plus seulement à la fin, mais à un moment quelconque, le volume de l'acide carbonique disparu et celui de l'oxygène apparu par le fait de la végétation. J'ai dû, pour satisfaire à cette condition, renoncer à l'emploi du tube à cuivre, qui précédemment servait à absorber de temps en temps l'oxygène gazeux en excès. J'y ai renoncé pour diverses raisons, parmi lesquelles je citerai seulement la suivante. Le cuivre, même à froid, s'oxydait lentement et fixait aussi un peu d'acide carbonique; cette double

action faisait varier d'une manière indéterminée la composition de l'atmosphère interne, dont on ne pouvait plus dès lors apprécier les variations dues à la seule influence des plantes. Mais, remarquons-le bien, cet inconvénient n'empêchait nullement une exacte évaluation, en fin d'expérience, des quantités de gaz cherchées, puisqu'alors, ainsi qu'il a été dit, l'oxygène et l'acide carbonique retenus par le cuivre étaient récupérés et dosés.

L'appareil que j'ai employé consiste simplement en un récipient de verre A, au fond duquel se trouve le sol de culture et qui porte à son extrémité supérieure un tube B, deux fois recourbé à angle droit, s'élargissant en C et venant plonger dans le mercure d'une petite cuve profonde D. Le bouchon de caoutchouc E, que traverse le tube B, est noyé dans du mercure. Il laisse passer un second tube, G, servant à faire le vide et à introduire l'oxygène et l'azote. Ce tube est, pendant l'expérience, fermé par un caoutchouc et un obturateur qui plongent dans du mercure; lorsqu'on fait le vide, au début et à la fin, on envoie de l'eau fraîche dans le manchon qui l'enveloppe, de manière qu'il serve de réfrigérant. La partie inférieure du récipient A occupe le milieu d'un bassin F qui est rempli, lorsqu'on procède au vide, d'eau à 30° et, en temps ordinaire, de terre humide.



Un bâton de soufre S est suspendu à l'entonnoir à longue queue H. Ce dernier sert à conduire dans l'intérieur du sol l'eau de condensation fournie par le réfrigérant GG; il évite que cette eau ne bouleverse dans sa chute la surface du sol; ce qui, lorsqu'on fait le vide au début de l'expérience, détruirait l'effet attendu de la couche de sable calciné.

L'acide carbonique s'introduit par la partie inférieure de C, au moyen du petit volumètre spécial employé pour le mesurer.

Les prises de gaz pour analyses se font également en C. Il faut être certain que ces prises représentent bien l'atmosphère contenue en A. Avant de prélever une prise, on commence donc par amener en C les gaz de A. Il suffit, pour y parvenir, d'élever la cuve D verticalement, de manière que C s'y enfonce complètement, puis de l'abaisser et de renouveler deux ou trois fois cette manœuvre. Le volume du gaz ainsi appelé en C étant beaucoup plus grand que le volume du tube B, celui-ci se trouve entièrement purgé des gaz qu'il renfermait et l'on peut prendre en C un échantillon fidèle de l'atmosphère de A.

Dans la nouvelle disposition que j'indique, on n'absorbe plus d'oxygène au cours d'une expérience. On laisse la proportion de ce gaz s'élever peu à peu à mesure que la végétation se développe. Je craignais un peu qu'elle ne devint bientôt nuisible aux plantes; mais celles-ci ont paru jusqu'au dernier moment parfaitement portantes, bien que le taux d'oxygène ait atteint 42,5 0/0. Puisqu'on n'absorbe pas l'oxygène produit et qu'on ajoute de temps à autre de l'acide carbonique, la pression totale des gaz à l'intérieur de l'appareil doit augmenter progressivement. Aussi faut-il, pour éviter toute sortie de gaz au dehors, commencer l'expérience avec une pression assez faible. Cette pression a crû ici de 55 à 70 centimètres de mercure environ. Elle a toujours été, comme on voit, inférieure à la pression externe, condition qu'il est nécessaire d'observer si l'on veut être absolument certain d'éviter toute fuite par les joints.

L'azote gazeux mis en œuvre est mesuré avec précision, de même que l'oxygène et l'acide carbonique introduits au début ou en cours d'expérience. Comme il ne varie pas (on le vérifie finalement), il fournit une base très utile pour le calcul des quantités d'oxygène et d'acide carbonique qu'on veut avoir. En effet, l'analyse de l'atmosphère interne indique la proportion centésimale de chacun des trois gaz. Le volume de l'azote gazeux étant connu, on en déduit celui de l'oxygène et celui de l'acide carbonique existant dans l'appareil au moment du prélèvement de l'échantillon analysé et, par suite, le volume de chacun de ces deux gaz apparu ou disparu depuis le commencement de l'expérience.

Comme sol, j'ai employé 2 kilogrammes du même sable

quartzeux que précédemment. Je n'y ai point, cette fois, ajouté de carbonate de chaux. Ce sol entraîne, en effet, une complication pour l'extraction finale du gaz carbonique, parce qu'il donne du bicarbonate qui, pour être entièrement décomposé, exige le maintien prolongé du vide ¹.

Au sable ont été ajoutés 350^{cc} d'une solution contenant par litre :

Sulfate de calcium	0gr,3;
Azotate de potassium	1gr,500 (exactement pesé, soit 0gr,0728 d'azote dans 350 ^{cc});
Phosphate bicalcique	0gr,5 (dissous ou en suspension);
Sulfate de magnésium anhydre	0gr,3;
Sesquioxyde de fer	0gr,020 à 0gr,025 (à l'état d'hydrate en suspension).

Pour mesurer exactement l'influence du sol dans les variations de la composition de l'atmosphère interne, j'ai institué une expérience témoin (expérience IV), disposée et exécutée comme celle qui vient d'être décrite, avec les mêmes poids de sable et de sels et un volume de gaz moindre pour qu'il se mesurât mieux, mais *sans culture*. L'expérience a duré du 21 juillet au 6 octobre. L'examen des gaz, fait au début et à la fin, a appris que, pendant ce temps, le sol avait absorbé 44c. c. d'oxygène et dégagé à très peu près autant d'acide carbonique ²; l'azote gazeux n'a pas varié sensiblement (azote initial 624^{cc},2, azote final 626^{cc},1; différence 1^{cc},9); du moins, la variation a été de l'ordre des erreurs permises, étant donné surtout qu'on a eu à faire non pas seulement des mesures volumétriques, mais aussi l'analyse eudiométrique des gaz extraits finalement.

Les plantes obtenues ont été de très belle apparence. Les parties aériennes étaient bien vertes, sans une feuille flétrie ou décolorée; elles ont atteint de 22 à 35 centimètres de hauteur au-dessus du sol.

1 Bien qu'on n'ait pas ajouté, comme dans les expériences I et II, du carbonate de chaux, on a rencontré, à un bien moindre degré, il est vrai, la difficulté qui vient d'être signalée, par suite de la formation du bicarbonate fourni par l'action de l'acide carbonique sur le phosphate bicalcique.

2. A supposer que le caoutchouc du bouchon E ait agi sur la composition de l'atmosphère, par exemple en absorbant des traces d'oxygène, ou encore que le mercure contenu en C ait fixé quelque peu du même gaz, ces actions ont été vraisemblablement les mêmes pour les expériences III et IV, les deux appareils étaient identiques; leurs effets sont compris dans les 44 c. c. dont il s'agit et corrigés plus bas en même temps que l'action du sol lui-même.

Le tableau suivant présente les données et les résultats numériques de l'expérience III.

III

Houque laineuse, semée le 7 juillet, récoltée le 6 septembre.

Poids des graines..... 20mgr

Azote gazeux mis en œuvre..... 3.925cc

CO ² introduit.....	1.540cc,0	} 1.551cc,0
— dégagé par le sol.....	11cc,0	
— extrait.....	23cc,6	
— disparu par le fait des plantes.....	1.527cc,4	

O extrait.....	2.898cc,1	} 2.909cc,1
— absorbé par le sol.....	11cc,0	
— introduit au début.....	1.174cc,2	
— apparu par le fait des plantes.....	1.734cc,9	

	13 août	18 août	26 août	1 ^{er} septembre	6 septembre
vol. CO ² disparu	0,87	0,88	0,88	0,91	0,89
vol. O apparu					

Je présenterai, relativement à ces chiffres, quelques explications.

Les 1,540^{cc},0 d'acide carbonique introduit ont compris 9 volumes variant de 164^{cc},52 à 176^{cc},59.

On a tiré les 11 c. c. d'acide carbonique et d'oxygène, correspondant à l'action du sol, des résultats de l'expérience témoin IV, en ayant égard à la différence des durées des deux expériences.

Les volumes d'acide carbonique et d'oxygène extraits ont été obtenus, comme on l'a indiqué déjà, par la mesure du total des gaz retirés de l'appareil et par l'analyse de leur mélange. Les gaz ont été mesurés en plusieurs fois dans le même volumètre qui avait été employé au début de l'expérience. Chaque portion mesurée a été l'objet d'une analyse eudiométrique à laquelle on a apporté les plus grands soins. Ces analyses n'ont jamais fait reconnaître la présence, en proportion appréciable, de gaz combustibles. Comme vérification des mesures et analyses, on a retrouvé finalement l'azote gazeux mis en œuvre dans les limites des erreurs admises (4 ou 5 c. c., le volume total des gaz extraits étant de près de 7 litres).

Les volumes d'acide carbonique et d'oxygène extraits, 23^{cc},6 et 2,898^{cc},1, comprennent, comme plus haut, les petites quantités de ces gaz absorbées dans les analyses de l'atmosphère interne, soit respectivement 0^{cc},01 et 2^{cc},40.

J'ai fait l'analyse élémentaire des plantes récoltées.

Les plantes *entières* se composaient, en réalité, de trois portions :

1^o Les parties vertes, coupées à un demi-centimètre au-dessus du sol, parfaitement exemptes de sable et pesant, après dessiccation, 1^{er},834;

2^o Les racines, qu'on avait séparées du sol avec le plus de soin possible, mais qui contenaient néanmoins une forte proportion de sable; défalcation faite de ce sable, elles pesaient à l'état sec 0^{er},194¹;

3^o Les débris végétaux, très petits, restés dans le sol.

Quant à ces débris, on en a seulement déterminé le carbone; on l'a obtenu en dosant cet élément à la fin des expériences dans le sable de III (expérience avec culture) et dans le sable de IV (expérience témoin), et retranchant le second résultat du premier. On a supposé aux débris la même composition qu'aux racines, hypothèse qui, si elle n'est pas tout à fait exacte, ne saurait entraîner une erreur sensible pour l'ensemble des plantes, vu la proportion des matières. D'après cela on a calculé, par le poids de carbone, le poids de chaque élément et le poids total (0^{er},090) des débris.

Les poids de carbone, hydrogène, azote, cendres et oxygène donnés ci-après pour la composition des plantes entières, représentent la somme des trois portions qui viennent d'être indiquées.

Composition des plantes entières de houque laineuse.

Carbone.....	0 ^{er} ,827	39,0
Hydrogène.....	0 ^{er} ,106	3,0
Azote.....	0 ^{er} ,060	2,9
Cendres.....	0 ^{er} ,421	19,9
Oxygène (par différence).....	0 ^{er} ,704	33,2
Plantes entières sèches.....	2 ^{er} ,118	100,0

On a dosé l'acide carbonique contenu dans les cendres; il n'y en avait qu'une proportion très faible, correspondant à 2 mgr. de carbone. Dans le poids de carbone de 827 mgr., ces 2 mgr. sont compris. Le poids de 421 mgr. représente, au contraire, les cendres sans leur acide carbonique.

1. Les parties vertes et les racines ont été desséchées immédiatement après leur sortie de l'appareil. Il importait, en effet, qu'elles ne pussent continuer à assimiler du carbone ou à respirer, ce qui aurait modifié leur composition.

J'ai vérifié les résultats obtenus relativement au carbone et à l'azote, en établissant ce qu'on peut appeler le bilan de chacun de ces deux éléments.

BILAN DU CARBONE DE L'EXPÉRIENCE III

Carbone mis en œuvre.

Dans le sol.....	58mgr,1
Dans les graines.....	8mgr,0
Introduits dans les 1.540 ^{cc} ,0 d'acide carbonique.....	826mgr,0
	<hr/> 892mgr,1

Carbone retrouvé finalement.

Dans le sol.....	88mgr,7
Dans les plantes.....	788mgr,5
Dans les 23 ^{cc} ,6 d'acide carbonique extrait.....	42mgr,7
	<hr/> 889mgr,9

Les 788^{mgr}, 5 ci-dessus correspondent seulement aux parties vertes et aux racines, c'est-à-dire aux deux premières des trois portions citées plus haut comme composant les plantes entières ; ils ne comprennent pas le carbone des débris que le sol a gardés, carbone déjà compté dans les 88^{mgr}, 7 du sol.

BILAN DE L'AZOTE DE L'EXPÉRIENCE III

Azote au début.

Dans le sol additionné de solution nutritive.....	67mgr,2
Dans les graines.....	0mgr,5
	<hr/> 67mgr,7

Azote à la fin.

Dans le sol.....	9mgr,9
Dans les plantes.....	59mgr,3
	<hr/> 69mgr,2

Les 59^{mgr}, 3 correspondent aux parties vertes et aux racines, sans les débris laissés dans le sol, lesquels sont compris dans le chiffre de 9^{mgr}, 9.

Ainsi, on retrouve à la fin, dans les limites d'erreur permises, le carbone et l'azote mis en œuvre. Les vérifications sont tout à fait satisfaisantes.

CONCLUSIONS.

1^o Le rapport R du volume de l'acide carbonique disparu à celui de l'oxygène apparu par le fait des plantes examinées

pendant les six ou huit premières semaines de leur végétation, a été trouvé notablement inférieur à l'unité ¹.

On pourrait reprocher à l'expérience III d'avoir comporté des tensions anormales d'oxygène (jusqu'à 42, 5 0/0). Mais elle a donné un résultat du même ordre que l'expérience II, où la proportion d'oxygène a été entretenue au voisinage de 20 0/0. Et, de plus, les expériences de Boussingault, de MM. Dehérain et Maquenne, de MM. Bonnier et Mangin, ont fait voir que les rapports $r = \frac{\text{CO}_2 \text{ disparu}}{\text{O apparu}}$ pour l'assimilation du carbone et $r' = \frac{\text{CO}_2 \text{ apparu}}{\text{O disparu}}$ pour la respiration étaient, dans des limites très étendues, indépendants de la pression des gaz carbonique et oxygène. Il est donc à penser qu'ici notre rapport R, sorte de résultante de r et r' , n'a pas été sensiblement altéré par la présence d'un excès d'oxygène.

2° Dans l'expérience III, le rapport R n'a pas notablement varié au cours de la végétation.

Je n'oserais donner ce résultat comme parfaitement établi; car il faut noter qu'au début de l'expérience la détermination de R se fait avec un degré d'exactitude laissant quelque peu à désirer, à cause de la petitesse des deux termes de la fraction.

3° Il entre dans la composition de la matière organique d'une plante entière (et en particulier de notre Houque) un poids d'hydrogène supérieur à celui qui, avec l'oxygène de cette matière, formerait de l'eau. Pour rendre compte de ce fait important, on a été conduit, comme on sait, à admettre que la plante élimine de l'oxygène sous une forme ou sous une autre, et MM. Dehérain et Maquenne, ayant trouvé que, dans la respiration, le rapport r' était fréquemment plus grand que l'unité, ont bien fait remarquer qu'il y avait là une cause de déperdition d'oxygène par départ d'une certaine quantité d'acide carbonique dont les deux éléments seraient fournis par la plante même; mes expériences s'accordent avec cette manière de voir. En dehors de toute hypothèse sur le mode d'élimination de l'oxygène, elles permettent de constater le fait de cette élimination par des mesures directes.

1. Quant aux valeurs mêmes de R trouvées dans les expériences I et II (0,75 et 0,82), elles sont peut-être entachées d'une légère erreur provenant de la difficulté qu'il y a eu à extraire absolument la totalité de l'acide carbonique hors de l'appareil, par suite de la formation d'une assez grande quantité de bicarbonate calcaire.

4° La houque de l'expérience III a puisé de l'oxygène pour constituer sa substance organique, non pas seulement dans l'eau et les gaz acide carbonique et oxygène de l'atmosphère, suivant ce qu'on indique d'ordinaire, mais aussi, et en proportion importante, dans les sels minéraux oxygénés qui ont pénétré par les racines. Cette conclusion ressort du tableau suivant, qui présente le calcul, d'après les chiffres donnés plus haut, de la quantité d'oxygène gagnée par les plantes dans leurs rapports 1° avec l'eau et 2° avec l'atmosphère, et la comparaison de cette quantité avec le total de l'oxygène acquis pendant la végétation.

1° Hydrogène des plantes	406mgr	
— des graines	1	
— pris à l'eau par les plantes.	403mgr	
Oxygène emprunté par les plantes à l'eau	403mgr	$\times 8 = 840 \text{ mgr}$
2° Oxygène libre dégagé par les plantes..	1.734cc,9	
— contenu dans l'acide carbonique absorbé par les plantes	1.527cc,4	
— perdu par les plantes dans leurs rapports avec l'atmosphère	207mgr,5	$= 297 \text{ mgr}$
Oxygène gagné par les plantes dans leurs rapports avec l'eau et l'atmosphère		543mgr
D'autre part, il y a dans les plantes :		
Oxygène total de la matière organique.	704mgr	154mgr
— provenant des graines	7	
— acquis par les plantes en dehors des graines	697mgr	
		697mgr

La matière organique des plantes contenant 697 milligrammes d'oxygène acquis en dehors des graines et n'en tenant que 543 de ses rapports avec l'eau et l'atmosphère, il faut qu'elle ait pris 697 milligrammes — 543 milligrammes ou 154 milligrammes à une autre source. Cette source réside dans les sels oxygénés venant du sol, sulfates, phosphates et avant tout azotates. On a dit souvent que la plante verte était un appareil réducteur. Elle apparaît nettement ici sous cet aspect.

5° Des expériences telles que notre expérience III, fondées à la fois sur la mesure et l'analyse des gaz au sein desquels les plantes ont vécu et sur la détermination de la composition de ces plantes, semblent devoir fournir de très précieux renseignements pour l'étude de la synthèse végétale.

DE LA FORMATION D'ALDÉHYDE

DANS LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

PAR M. ROESER

Pharmacien-major de 2^e classe.

En 1854, M. Magnes-Lahens signalait la présence de l'aldéhyde dans le vin et l'eau-de-vie. MM. Maumené, Bouchardat, I. Pierre, Ordonneau, Claudon et Morin, confirmaient ce résultat soit pour le vin, soit pour des eaux-de-vie authentiques. MM. Gayon, Martinand, Riche et Bardy, Mohler, Claudon et Morin, retrouvaient et dosaient l'aldéhyde dans les produits de tête de rectification d'alcools de fermentations industrielles (betteraves, grains ou autres matières sucrées ou amylacées). MM. Schutzenberger et Destrem étendaient cette production d'aldéhyde à toute fermentation alcoolique faite à l'abri de l'air avec de la levure lavée. Toutes ces fermentations n'étaient pas, il est vrai, à l'abri de contaminations et de fermentations secondaires, et ne pouvaient être considérées comme faites avec des levures absolument pures. Se plaçant dans ces dernières conditions, M. Duclaux trouvait de l'aldéhyde dans la fermentation alcoolique du lactose. MM. Linossier et Roux observaient le même résultat dans la fermentation alcoolique du glucose sous l'influence de la *forme levure* du champignon du muguet, levure d'ailleurs fort peu active comme ferment alcoolique.

Il pouvait donc être intéressant, aujourd'hui surtout, où on a, pour déceler l'aldéhyde, des réactions très sensibles, de rechercher si ce corps est un produit constant de la fermentation alcoolique, d'en doser les quantités, d'examiner quelques facteurs qui peuvent faire varier ces quantités, et d'essayer d'en expliquer l'origine.

Nous dirons un mot, en commençant, sur les procédés de recherche et de dosages des aldéhydes, surtout de l'aldéhyde éthylique et de ses homologues. Le plus sensible, et celui auquel nous nous sommes arrêté, est le procédé colorimétrique de Schiff, basé sur la coloration violacée que prend une solution de fuchsine décolorée par l'acide sulfureux.

Nous avons suivi, pour préparer cette solution, la formule de M. Gayon. Les dosages ont été effectués dans des tubes à essais étroits et calibrés à 10 c. c., dans lesquels le liquide de distillation, où il s'agissait de doser l'aldéhyde, était mis en comparaison avec d'autres liquides contenant des doses connues et graduellement croissantes d'aldéhyde. Le volume était de 10 c. c. pour toutes ces liqueurs, et le titre alcoolique était amené à être le même partout à l'aide de petites quantités d'alcool absolu ne donnant qu'une teinte à peine sensible avec le réactif. Dans chaque tube, nous ajoutions 0 c. c. 50 de la solution de fuchsine; nous avons ainsi, au bout de 15 minutes environ, une échelle colorimétrique permettant de conclure à la teneur en aldéhyde. L'emploi d'un colorimètre eût peut-être donné un peu plus d'exactitude à nos résultats : tels qu'ils sont, ils restent comparables entre eux.

Nous avons souvent contrôlé la présence de l'aldéhyde par le procédé colorimétrique d'Ehrlich au diazobenzosulfonate de sodium. La préparation de ce sel est longue et délicate : sa solution s'altère rapidement. Nous l'obtenions facilement au fur et à mesure des besoins en mettant, dans le tube à essai contenant l'aldéhyde, 3 à 4 gouttes d'une solution d'acide sulfanilique à 1/0/0, autant de gouttes d'une solution récente d'azotate de sodium à 1/500, plus une goutte d'acide chlorhydrique. Après agitation et contact de quelques minutes, l'addition de quelques gouttes d'une solution de soude caustique à 1/10 faisait apparaître à la longue la coloration rose violacée. Le procédé est plus long et moins sensible que le précédent. Quant aux autres procédés basés, soit sur l'emploi du chlorhydrate de méta-phénylène-diamine (Vindisch), soit sur la réduction du nitrate d'argent ammoniacal, ils sont encore moins sensibles.

I

Si l'aldéhyde est un produit constant de la fermentation alcoolique, on doit en trouver dans des produits courants de fermentation, les vins par exemple ; on doit en trouver aussi dans les fermentations provoquées dans des conditions diverses, mais surtout indemnes de tout germe étranger.

Sur 30 échantillons de vins, examinés sous ce rapport, j'ai trouvé partout une quantité appréciable d'aldéhyde : 25 étaient des vins de coupages commerciaux et contenaient 0^{sr},010 à 0^{sr},040 d'aldéhyde par litre, leur titre alcoolique oscillant de 10° 5 à 11° 5 ; 5 autres échantillons renfermaient les doses suivantes d'aldéhyde par litre :

	Aldéhyde par litre.
Vins des environs de Paris	0 ^{sr} ,160
Sauterne.....	moins de 0 ^{sr} ,001
Banyuls (vin piqué).....	— 0 ^{sr} ,001
Grave.....	0 ^{sr} ,100
Algérie Guelma.....	0 ^{sr} ,020

31 fermentations faites au laboratoire, soit avec de petites quantités de raisin (250 à 300^{gr}) écrasé dans des cristallisoirs de verre, soit avec des marcs de pressurage de moûts, délayés dans de l'eau, largementensemencés avec des cultures pures de levures, ont donné des quantités d'aldéhyde variant de 0^{sr},010 à 0^{sr},170 par litre.

77 fermentations pures ont été faites de même, au laboratoire, dans des moûts de raisin filtrés au papier et stérilisés à l'autoclave, ou filtrés à la bougie Chamberland. Ces moûts stériles, répartis en petite quantité dans des ballons, placés dans des conditions variées qui seront examinées plus loin, ont étéensemencés avec des cultures pures de diverses races de levures. Toutes ces fermentations ont donné comme produits, à côté de l'alcool, des quantités très variables d'aldéhyde, même dans les cas où le milieu se prêtait peu au développement des levures, et où la fermentation ne tardait pas à s'arrêter, après une faible production d'alcool, comme cela est arrivé avec des moûts de raisin muscat.

Comme les moûts de raisin renferment, à côté des matières

sucrées, d'autres matières complexes, auxquelles on pouvait rapporter la formation d'aldéhyde, il devenait nécessaire de chercher si l'aldéhyde se retrouvait dans les fermentations de glucose dans des milieux artificiels, pauvres en matières organiques, et ne contenant l'azote qu'à l'état de sel ammoniacal. Ces milieux ont été l'eau de levure à 10/100 et le liquide de M. Laurent¹, additionnés de glucose. Les levures se sont facilement développées après 3 passages dans le premier milieu ; il n'en a pas été de même pour le second ; au 5^e passage, la levure de Champagne et le *Saccharomyces Pastorianus* donnaient seuls des cultures peu abondantes, ayant fait disparaître la presque totalité d'une petite quantité de glucose.

Dans ces milieux artificiels, 42 fermentations ont été provoquées par les mêmes levures que ci-dessus. Nous y avons toujours trouvé plus ou moins d'aldéhyde.

L'ensemble de ces résultats, portant sur des analyses de vin ou de produits de fermentation, soit de moût de raisin, soit de glucose, exemptes de tout germe étranger aux levures, confirme le fait de la formation de petites quantités d'aldéhyde dans les fermentations alcooliques effectuées par ces levures.

II

La quantité d'aldéhyde, produite dans ces fermentations, est toujours petite, mais elle est aussi variable. Quelle est dans ces variations la part de la race de levure et quelle est celle du milieu ? Pour étudier cette question, nous avonsensemencé, dans des moûts de raisin variés et dans de l'eau de levure sucrée, diverses races de levure que je dois à l'obligeance de MM. Fernbach, Kayser et Rietsch. Ce sont des levures de : Champagne, Santenay, Vougeot, Thann, Saint-Émilion, Jurançon, Tokay, Algérienne, Lactose, Pale-ale et le *Sacc. Pastorianus*. Le tableau suivant résume mes résultats. Les quantités d'aldéhyde indiquées dans les six dernières colonnes sont exprimées en milligrammes par litre.

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. III.

NATURE DES MOÛTS.	DURÉE ET TEMPÉRATURE de la FERMENTATION.		CHAMPAGNE.	SANTENAY.	THANN.	JURANÇON.	VOUGEOT.	PASTEURIANUS.
I. Raisin blanc.....	3 jours	à 20°	470	440	435	435	»	»
II. Raisin noir environs de Paris.....	5	— 15°-17°	»	460	040	035	»	»
III. Raisin noir environs de Paris.....	44	— 15°-17°	072	470	040	058	»	»
IV. Raisin blanc chas- selas.....	44	— 15°-17°	410	»	»	»	090	010 ¹
V. Raisin noir ²	43	— 15°-17°	055	050	030	040	095	028
VI. Raisin blanc chas- selas.....	44	— 15°-17°	038	»	»	080	050	»
VII. Eau de levure 10/100	8	— 25°	055	060	»	035	420	»
VIII. Liquide Laurent...	42	— 25°	020	»	»	»	»	040

1. Fermentation incomplète, il reste une grande quantité de glucose.
2. Moût très acide. Acidité en SH²⁰ 40.878 par litre.

Il restait dans la fermentation des trois derniers moûts, IV, V et VI, de notables quantités de glucose. Pour l'eau de levure VII, qui contenait 6,66 0/0 de glucose, les levures avaient subi trois passages dans le milieu, pour s'y acclimater, et cinq passages pour le liquide VIII de M. Laurent, glucosé à 2,50 0/0; toutes ces fermentations ont été faites dans des matras Pasteur. De l'examen de ces résultats, il ressort que la quantité d'aldéhyde varie d'une façon très notable pour un même moût d'une race de levure à l'autre, et, pour une même race, d'un moût à l'autre. Il y a donc là tout à la fois question de semence et question de terrain.

Parmi les circonstances qui peuvent influencer sur la formation de l'aldéhyde, la question d'aération pouvait être considérée comme un des facteurs les plus importants, d'autant plus que MM. Schutzenberger et Destrem rapportaient cette formation à la fermentation effectuée à l'abri de l'air par de la levure lavée.

Nous avons donc provoqué des fermentations dans les ballons à deux tubulures, largement aérés, employés par M. Fernbach, et dans lesquels le liquide est en large surface sur une

faible épaisseur, dans des matras Pasteur et dans des matras scellés où nous avons fait le vide; ces derniers étaient ouverts de temps à autre, de façon à diminuer la pression due au dégagement d'acide carbonique. Dans les résultats résumés au tableau qui suit, nous avons introduit un nouvel élément, le poids de levure obtenue. Les quantités d'aldéhyde sont toujours des milligrammes par litre,

NATURE DES MILIEUX.	DURÉE ET TEMPÉRATURE de la FERMENTATION.	RACES DES LEVURES.	CULTURES			
			en MATRAS PASTEUR		DANS LE VIDE	
			Poids de levure obtenue.	Quantité d'aldéhyde pour 1000	Poids de levure obtenue.	Quantité d'aldéhyde pour 1000
			Ogr		Ogr	
IX Moût de raisin noir.....	11-15 jours 25°	Champagne	083	410	»	050
		Santenay	»	480	035	040
		Pasteurianus.	069	415	028	050
X Moût de raisin noir.....	11-15 jours 25°	Vougeot	060	340	046	080
		Jurançon	064	060	»	»
XI Moût de raisin blanc	11-15 jours 25°	Champagne	060	470	025	050
		Jurançon	075	120	043	010
		Thann	079	240	057	030
		Champagne	404	490	037	040
		Santenay	090	220	025	040
XII Moût de raisin noir.....	12-15 jours 25°	Jurançon	086	160	045	060
		Tokay	431	060	045	030
		St-Émilion	418	260	022	080
		Algérienne	402	070	025	030
		Champagne	055	140	024	030
		Santenay	048	280	030	050
XIII Eau de levure à 10/100, gluco- sée à 14/100..	12-15 jours 25°	Jurançon	040	150	024	030
		St-Émilion	048	280	030	050
		Algérienne	066	090	037	050
		Pasteurianus.	039	220	034	030
		Vougeot	075	040	044	030
XIV Eau de levure à 10/100, glu- cosée à 15/100.		Thann	042	150	030	020
		Tokay	039	»	027	050
		Lactose	039	280	034	050

Contrairement à l'opinion de MM. Schutzenberger et Destrem, c'est donc dans les cultures anaérobies qu'il y a le moins d'aldéhyde, et dans les matras Pasteur qu'elle est au maximum.

Les cultures en matras Fernbach ne figurent pas dans ce tableau; le poids de levure y était supérieur à ce qu'il était dans les matras Pasteur. La teneur en aldéhyde y était généralement élevée et toujours supérieure à celle des cultures dans le vide; mais elle ne pouvait entrer en ligne de compte : une grande quantité d'aldéhyde avait pu s'évaporer.

En comparant, dans le tableau, le poids de levure et la quantité d'aldéhyde formée, on trouve entre ces deux facteurs une certaine relation. Il semble que la cellule levure, en évoluant, oxyde une petite portion de l'alcool produit et le transforme en aldéhyde, et que cette faculté ne soit pas au même niveau chez toutes, car nous retrouvons là encore, pour un même milieu, une question de races pour les levures.

Pour appuyer cette explication, on pouvait essayer de reproduire l'expérience de MM. Linossier et Roux : supprimer à la levure le sucre comme aliment ternaire et le remplacer par l'alcool. Le milieu a été l'eau de levure additionnée de petites quantités d'alcool. Les diverses races, déjà acclimatées dans l'eau de levure, l'ont été dans ce milieu par trois passages. Elles ne se sont pas toutes prêtées à cette nouvelle adaptation, et même pour celles qui se sont développées d'une façon appréciable, les quantités de levure étaient trop faibles pour être recueillies et pesées, même comparativement. Ces cultures ont été faites en matras Pasteur.

RACE DES LEVURES.	DURÉE ET TEMPÉRATURE de la FERMENTATION.	QUANTITÉ	
		d'alcool 0/0 en volume.	d'aldéhyde par litre.
Champagne.....	20 jours 15-17°	4.2	120
Vougeot.....		4.2	160
Saint-Émilion.....		4.2	180
Algérienne.....		4	050
Pale-ale.....		4.2	050
Témoin laissé dans les mêmes conditions de temps et de température.....		4.6	Traces à peine sensibles.

Nous n'avons pas fait figurer au tableau les cultures en matras Fernbach pour les mêmes raisons que ci-dessus; leur teneur en aldéhyde se rapprochait de celle en matras Pasteur; une levure ne s'y est pour ainsi dire pas développée, c'est celle de pale-ale. Dans les matras Pasteur, l'acidité du milieu avait notablement augmenté, celle du témoin était de 0^{sr},294 en SH²O⁴ par litre, elle avait presque doublé pour les trois premières levures.

La levure peut donc se développer dans un milieu alcoolique sans trace de sucre, oxyder l'alcool et le transformer partiellement en aldéhyde.

Les cultures ont été ici très languissantes, et on pourrait croire que l'aldéhyde est un produit de souffrance. Ceci n'est en désaccord avec aucun des faits rapportés dans ce travail; car, dans les fermentations les plus prospères, il y a toujours des cellules vieilles ou entourées de mauvaises conditions d'existence. Mais aucun fait n'étaye non plus cette opinion; c'est une question à étudier à part en même temps que l'influence de la température, qui n'est pas apparente dans les cas qui précèdent, mais qui ne doit pas être nulle.

Un point sur lequel nous appelons l'attention, c'est que certains produits de distillation de ces fermentations ont donné très nettement la coloration rose violacée de Legal avec le nitroprussiate de soude; cette coloration coïncidait avec une teneur élevée en aldéhyde; elle n'était cependant pas constante là où existaient les plus fortes proportions d'aldéhyde, et semblait plutôt dépendre des races de levure. Est-ce un produit acétonique? Nous opérions sur de trop faibles quantités pour essayer de nous en rendre compte. Nous n'avons jamais obtenu les réactions colorées du furfurol. Enfin, dans les tâtonnements pour trouver un milieu artificiel, nous avons essayé une solution de peptone à 1/1000; dans cette solution, certaines levures ont immédiatement donné des spores; les autres s'y sont mal développées.

III

On peut rapporter le fait de la production de l'aldéhyde à plusieurs causes :

A une oxydation directe de l'alcool par l'oxygène. Qu'il s'en forme dans ces conditions particulières, cela est fort possible,

l'aldéhyde de cette provenance ne fait que s'ajouter à celle existant du fait de la fermentation ;

A la dislocation de la molécule sucrée, comme l'avançaient MM. Schutzenberger et Destrem, et au même titre que l'acide succinique et la glycérine de la fermentation alcoolique. L'aldéhyde provient-elle du sucre ou de l'alcool ? L'alcool se produisant en présence et aux dépens du sucre, la question semble difficile à résoudre. Nous avons pourtant, comme argument, l'expérience où nous avons observé une formation d'aldéhyde par la levure, dans des milieux où il y avait absence complète de glucose, remplacé par de l'alcool ;

A l'action de la levure sur des substances organiques, autres que les sucres, qui se trouvent dans les moûts naturels et artificiels. Pour l'alcool, nous rentrons dans le cas précédent. Pour les autres substances, nous pouvons nous reporter aux milieux artificiels, où n'entraient que des sels cristallisés et du glucose, et où il y avait formation d'aldéhyde. Nous ferons entrer tous ces faits dans un même ordre, peut-être provisoire, en nous représentant la formation d'aldéhyde comme résultant de l'élaboration vitale de la cellule de levure, comme un produit de travail intérieur comparable à l'acide acétique et à la leucine.

Dans les vins et eaux-de-vie, l'aldéhyde est généralement en petite quantité. Cela peut tenir aux oxydations qui se produisent dans le chapeau lors de la fermentation, à l'évaporation pendant l'encuvage et surtout le soutirage, aux combinaisons consécutives que l'alcool forme avec les acides pour donner les éthers, avec l'aldéhyde pour donner l'acétal, que l'on a signalé parmi les produits volatils du vin.

Si l'on considère que l'aldéhyde, dans le tableau de MM. Dujardin-Beaumetz et Audigé, arrive en première ligne comme pouvoir toxique (la dose moyenne, par kilo d'animal, étant de 1 à 1,25 ; celle de l'alcool butylique étant de 1,28, celle de l'alcool amylique 1,40 à 1 50), l'on ne peut que se ranger à l'avis émis par M. Riche, lors de la longue discussion sur le vinage à l'Académie de Médecine : les eaux-de-vie peuvent être et sont dangereuses autant et plus que les alcools d'industrie ; c'est d'ailleurs la conclusion tirée aussi par M. Mohler des coefficients d'impureté des eaux-de-vie naturelles et artificielles.

REVUES ET ANALYSES

LA THÉORIE DES ALEXOCYTES

REVUE CRITIQUE.

HANKIN. Sur l'origine et la présence des alexines dans l'organisme, *Centralbl. für Bakteriöl.* T. XII, nos 22 et 23, pp. 777 et 809. —
HANKIN et KANTHACK. Sur la fièvre produite par l'injection des cultures stérilisées de *Vibrio Metchnikovi*, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 1892, Mars, p. 341. — KANTHACK. Leucocytose aiguë, provoquée par des produits bactériens, *Brit. med. Journal*. — KANTHACK. Immunité, phagocytose et chimiotaxie, *Ibid.*, p. 985.

M. Hankin est entré dans une voie nouvelle dans l'étude de cette question si compliquée de l'immunité. Depuis plusieurs années il cherchait un moyen de réconcilier la théorie cellulaire de l'immunité avec la théorie humorale en général, et les théories des phagocytes et du pouvoir bactéricide des humeurs en particulier. Ces tentatives l'ont amené à formuler une théorie nouvelle qui peut être désignée sous le nom de « théorie des alexocytes ».

Les alexocytes sont des cellules du sang, décrites par M. Ehrlich sous le nom de *leucocytes éosinophiles*. Ces éléments sécrètent des alexines, ou substances bactéricides qui se répandent dans le plasma sanguin et dans d'autres liquides de l'organisme. D'après M. Hankin, « les cellules de l'organisme luttent contre les microbes non seulement à l'aide de leur propriété phagocytaire; il existe encore d'autres cellules, caractérisées par la présence des granulations éosinophiles, qui sécrètent des substances bactéricides » (*Centralbl.*, p. 824). La démonstration de cette conclusion résulte, pour M. Hankin, d'une série d'expériences, en partie fort compliquées, et tendant à prouver que le sang des lapins est d'autant plus bactéricide qu'il renferme plus de leucocytes éosinophiles. M. Hankin a cru avoir aussi établi que l'augmentation du pouvoir bactéricide du sang est surtout marquée lorsque les cellules éosinophiles se sont débarrassées d'un grand nombre de leurs granulations.

L'étude du sang et du sérum des chiens et des rats n'ayant donné à ce point de vue que des résultats incertains, M. Hankin a concentré toute son attention sur les humeurs des lapins. Il s'est tellement fié à cette méthode d'expérimentation *in vitro*, qu'il n'a pas jugé à propos d'étudier les phénomènes qui se passent dans l'animal vivant.

Il est vrai que dans une étude antérieure, faite en collaboration avec M. Kanthack, M. Hankin a abordé la question du rapport qui existerait entre les leucocytes du sang et le pouvoir bactéricide de ce liquide. D'après ces recherches, l'augmentation dans le nombre des leucocytes amènerait un renforcement de la propriété bactéricide du sang, quoique ce pouvoir ne se trouve pas en proportion directe avec le degré de la leucocytose.

Mais il est évident que si l'on veut se faire une idée des éléments de la lutte de l'organisme contre les microbes, il faut avant tout analyser les phénomènes qui l'accompagnent. Il est donc indispensable d'étudier les choses comme elles se passent dans les exsudats, provoqués par les microbes. Cette question a été abordée par M. Kanthack¹.

Ce savant ne s'exprime pas d'une façon précise sur le rôle bactéricide des sécrétions éosinophiles et on n'a par conséquent pas le droit de confondre ses idées avec la théorie des alexocytes de M. Hankin; néanmoins les opinions des deux auteurs anglais présentent beaucoup d'analogie.

Pour M. Kanthack², la lutte de l'organisme contre les microbes est surtout préparée par les cellules éosinophiles, c'est-à-dire par cette variété des leucocytes qui se distinguent par l'absence complète de propriété phagocytaire. Les microbes et les produits microbiens provoquent la leucocytose du sang, qui est suivie de la diapédèse inflammatoire. Mais cette réaction n'est accomplie que par les éléments non phagocytaires. Même le pus est presque exclusivement composé de cellules éosinophiles, incapables d'englober les microbes. Les phagocytes n'interviennent que plus tard, et terminent le combat qui a été commencé et conduit en dehors d'une action phagocytaire quelconque. Les cellules éosinophiles, constituant l'exsudat en général et le pus en particulier, agissent en détruisant les microbes. Le pus est un milieu très destructif non seulement pour les microbes, mais même pour des corps beaucoup plus résistants.

Les expériences qui servent de base à cette théorie ont été faites sur la grenouille et le lapin; mais M. Kanthack, dans ses publications, leur attribue une importance générale. Il insiste sur ce que les phénomènes phagocytaires dépendent de l'action préalable des éléments éosinophiles, et reproche à plusieurs reprises aux auteurs qui se sont occupés de la phagocytose d'avoir ignoré les leucocytes éosinophiles, non phagocytaires.

Commençons à répondre à ce dernier reproche, car il nous con-

1. La partie du mémoire de ce savant concernant la destruction des bactéries dans l'organisme de la grenouille sera discutée ailleurs.

2. Ses vues ont été exposées dans le *Journal des Conn. méd.*, 1892, pp. 417, 425.

duira à résumer les connaissances acquises sur le rôle des différentes variétés de leucocytes dans la lutte contre les microbes.

Dans le résumé que nous avons donné dans nos *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation*¹, nous avons insisté sur ce fait que les leucocytes non éosinophiles, ou neutrophiles, qui constituent la grande majorité des globules blancs dans le sang et dans le pus, sont de vrais phagocytes, tandis que les cellules éosinophiles, qui ne représentent qu'une infime minorité des leucocytes, ne le sont pas. Ce résultat général était basé sur les recherches d'un grand nombre de savants, ainsi que sur des investigations personnelles.

Dès les premiers travaux de M. Ehrlich et de ses élèves, il avait été établi que l'augmentation du nombre des leucocytes éosinophiles ne se manifeste que dans des cas exceptionnels. Voici comment M. Ehrlich résume ses observations dans un de ses premiers mémoires² sur le sang, paru il y a plus de douze ans. « Dans toutes les leucocytoses aiguës, il n'y a augmentation que des formes mononucléaires et polynucléaires; les cellules éosinophiles semblent tout au contraire diminuées. » M. Schwarze³ confirme, dans sa thèse, cette manière de voir et ajoute : « Nous n'avons pu constater d'augmentation de leucocytes éosinophiles ni dans les leucocytoses aiguës (p. ex. dans la fièvre récurrente), ni dans les leucocytoses chroniques (posthémorragiques). Le seul processus pathologique dans lequel les cellules renfermant des granulations éosinophiles soient notablement augmentées, c'est la leucémie. »

Ceci est pour l'homme. Pour les animaux, une constatation analogue a été pour la première fois fournie par M. Ribbert⁴. Ce savant a démontré que dans la leucocytose et la diapédèse provoquées chez le lapin par l'injection des spores de champignons, ce sont seulement les leucocytes polynucléaires ordinaires, non éosinophiles, qui manifestent la réaction.

Les recherches de ces dernières années, s'étendant à la leucocytose du sang et à la formation des exsudats, c'est-à-dire visant le début et la fin de la réaction leucocytaire, ont été très nombreuses. Je ne citerai que quelques exemples pour démontrer que cette voie d'investigation a été suivie avec succès avant les travaux de MM. Hankin et Kanthack.

M. Fink⁵ a examiné à ce point de vue le pus de l'homme dans diverses affections aiguës et chroniques. Son résultat général est que

1. Paris, Masson, 1892.

2. *Zeitschrift für Klinische Medicin*, 1880, p. 560.

3. *Ueber eosinophile Zellen*. Diss. Berlin, 1880.

4. *Untergang pathogener Schimmelpilze im Körper*. Bonn, 1887, p. 77.

5. *Beitr. z. Kenntn. d. Eiters u. d. Sputums*. Elberfeld, 1890.

« les cellules éosinophiles dans le pus sont comparativement rares » (p. 15). Sur 18 cas, étudiés par lui, 12 ont fourni un pus privé de cellules éosinophiles; dans d'autres il ne les a trouvées qu'en petit nombre. M. Fink, presque en même temps que MM. Gollasch et Gabritchevsky, a fait cette constatation intéressante que les crachats des asthmatiques renferment beaucoup de leucocytes éosinophiles.

Cette notion, que le pus de l'homme contient presque exclusivement des cellules neutrophiles, a passé dans les traités généraux¹. Le fait que, dans la leucocytose de l'homme, ce sont encore les cellules neutrophiles qui prédominent de beaucoup sur les autres espèces de leucocytes, a été, d'une façon générale, établi par M. Rieder² dans sa monographie soigneuse de la leucocytose.

Dans les recherches sur la leucocytose provoquée par l'injection de la tuberculine, on a vu une augmentation du nombre de toutes les formes leucocytaires, mais ce sont surtout les neutrophiles qui prennent part à la leucocytose. Les éosinophiles ne présentent qu'une augmentation de peu d'importance, n'atteignant même pas la limite normale (5-10 0/0 d'après Gollasch).

D'après M. Tchistowitch³ « la leucocytose aiguë (après tuberculine) dépend surtout de l'augmentation du nombre des éléments polynucléaires, et souvent aussi de celui des leucocytes mononucléaires possédant un noyau lobé. Pour ce qui concerne les autres espèces de leucocytes⁴, leur nombre absolu augmente aussi dans la leucocytose très prononcée. D'autres fois ils restent sans changement notable et peuvent même diminuer ». M. Botkin⁵ a confirmé d'une façon générale ces résultats; ce n'est que dans les cas où la réaction après la tuberculine était accompagnée d'éruption cutanée que le nombre des éosinophiles présentait une augmentation plus considérable.

Toutes ces données, auxquelles on pourrait en ajouter d'autres, démontrent d'une façon très nette que les éosinophiles ne se rencontrent en général qu'en très petit nombre dans les processus réactionnels de l'organisme. Ce n'est que dans des cas tout à fait particuliers (leucémie, asthme bronchial, exanthèmes) que cette variété de leucocytes se présente avec une grande fréquence.

Cette conclusion est corroborée par l'étude de la répartition des éosinophiles dans la série animale. Rares en général, ces cellules présentent chez certaines espèces de vertébrés à sang froid un développement considérable. Assez fréquentes chez la grenouille (surtout en

1. V. Limbeck. *Grundr. d. Klin. Pathol. d. Blutes*, 1892, p. 133.

2. *Beitr. z. Kennt. d. Leucocytose*, 1892, p. 200.

3. *Berl. Klin. Woch.*, 1891, p. 838.

4. Entre autres les éosinophiles.

5. *Deutsche med. Woch.*, 1892, p. 321.

hiver), elles le sont beaucoup plus chez les couleuvres, comme cela a été démontré par M. Saint-Hilaire dans mon laboratoire.

Ainsi la rareté des cas de développement considérable des éosinophiles dans les maladies et chez les animaux, ne permet pas d'attribuer à ces cellules un rôle d'une portée aussi générale que le veulent MM. Hankin et Kanthack. Il est vrai que ces savants s'appuient souvent sur l'exemple du lapin, chez lequel les vraies éosinophiles constituent, d'après leurs recherches, la grande majorité des leucocytes. Ainsi M. Hankin (*Centralbl.*, p. 781) affirme que le plus grand nombre des leucocytes du lapin qui apparaissent pendant la leucocytose sont des cellules éosinophiles d'Ehrlich. Il faut cependant observer que déjà en 1880 il a été établi par MM. Ehrlich et Schwarze que le sang du lapin et du cobaye est très riche en leucocytes *pseudo-éosinophiles*, ou *amphophiles*, qui ne doivent point être confondus avec les vraies éosinophiles, et qui correspondent aux leucocytes neutrophiles de l'homme. Ces cellules amphophiles et polynucléaires, sont en même temps des phagocytes très accusés. Par contre les leucocytes éosinophiles sont très rares dans le sang des deux espèces de rongeurs mentionnées. Il est donc inexact d'affirmer que le pus de ces animaux soit constitué par des éléments éosinophiles, non phagocytaires. Cet exsudat, comme tant d'autres, est composé presque exclusivement par des phagocytes qui dans certains cas (homme) renferment des grains neutrophiles, dans d'autres (lapins, cobaye) des granulations pseudo-éosinophiles, ou amphophiles. Chez beaucoup d'animaux, ces cellules ne paraissent point renfermer de granulations, ou bien celles-ci n'ont pu encore être révélées par nos méthodes de coloration. L'essentiel, ce n'est pas le genre de granulations, mais bien la propriété phagocytaire des globules de l'exsudat.

Le résultat auquel nous conduit cet examen des faits acquis au sujet des granulations leucocytaires est tout à fait conforme avec celui qui découle de la recherche des phénomènes phagocytaires. Contrairement à l'affirmation de M. Kanthack, que la phagocytose ne débute que tardivement et à la suite d'une action préalable des éosinophiles, il est solidement établi que l'englobement des microbes par les phagocytes s'effectue avec une grande rapidité. Chez la grenouille, l'animal qui a servi aux recherches de M. Kanthack, les leucocytes renfermant des microbes ont été constatés par M. Trapeznikoff¹ (et je puis confirmer ses observations, faites dans mon laboratoire) déjà trois quarts d'heure après l'injection sous-cutanée. Chez le pigeon, M. Czaplewsky¹, (que l'on ne saurait accuser de sympathie pour la

1. *Annales de l'Inst. Past.*, 1891, p. 367.

2. *Zeits. chr. f. Hyg.*, 1892, p. 348.

théorie des phagocytes) a vu des leucocytes renfermant des bactériidies une demi-heure après l'inoculation sous la peau. Trois heures après l'introduction de spores charbonneuses sous la peau de la poule, M. Trapeznikoff a observé une accumulation considérable de leucocytes, dont un grand nombre étaient remplis de spores. Bien plus vite s'effectue l'englobement dans les cas où le virus a été introduit directement dans le sang. M. Werigo¹ a vu que l'englobement par les phagocytes commence aussitôt après l'injection des microbes.

Souvent on observe dans un exsudat encore séreux, développé à la suite d'une injection récente de bactéries, une masse de leucocytes chargés de microbes, et sans qu'il y ait de cellules éosinophiles, même en petit nombre. Comment admettre alors cette action préalable des sécrétions éosinophiles supposée par M. Kanthack?

La constatation faite tant de fois², que les microbes se développent avec une grande rapidité dans les exsudats retirés de l'organisme réfractaire et transportés dans une étuve, plaide aussi contre les théories de MM. Kanthack et Hankin. Ces exsudats, au moment de leur extraction de l'organisme, ne renferment que des microbes englobés par les leucocytes, ou bien contiennent une quantité inappréciable de bactéries libres. Ils devraient donc être remplis par les sécrétions éosinophiles bactéricides, et cependant, dès que les bactéries ne sont pas gênées par les phagocytes, elles se reproduisent dans les cellules et envahissent l'exsudat.

Ce fait, comme tant d'autres qui ont été invoqués contre la théorie du pouvoir bactéricide des humeurs, prouve en même temps l'impossibilité d'accepter la théorie des alexocytes. De quelque côté que nous envisagions cette tentative d'expliquer les phénomènes de résistance de l'organisme contre les microbes, toujours nous nous heurtons à des difficultés insurmontables. Avant de rechercher les sources des alexines, il aurait fallu d'abord prouver l'existence réelle de ces corps et démontrer leur rôle dans l'immunité. Or, plus on a étudié et approfondi la question du pouvoir bactéricide des humeurs, plus on a dû se persuader qu'il est impuissant à expliquer les phénomènes de l'immunité. Même dans les exemples les plus classiques de ce pouvoir bactéricide, on a constaté que l'immunité est due à une action cellulaire. Il a été notamment prouvé que ce sont les phagocytes qui détruisent les bactériidies vivantes chez le rat blanc et les vibrions avicides vivants chez les cobayes vaccinés.

Après cette critique générale, qui suffit à démontrer que les cellules éosinophiles sont loin de présenter la fréquence nécessaire pour expli-

1. Ces *Annales*, 1892, p. 505.

2. *Ann. de l'Inst. Pasteur*. 1891, p. 471; 1892, p. 303.

quer les phénomènes de la lutte de l'organisme contre les microbes, il est inutile d'entrer dans les détails du travail de M. Hankin. Il suffit du reste de comparer les expériences de cet auteur entre elles pour voir que les résultats qui en découlent sont dépourvus de la netteté et de la conformité indispensables dans une question si délicate. Le nombre des colonies qu'on peut tirer d'un même liquide de semence, quand on le sème sur des plaques de gélatine, est assez variable pour qu'on accueille avec une grande réserve les conclusions tirées de cette méthode de travail. Il est évident aussi qu'une théorie qui a la prétention d'avoir une portée générale, ne doit pas être basée sur l'étude d'une seule espèce animale, d'autant plus que le lapin, choisi par M. Hankin, se distingue par cette particularité que la grande majorité de ses phagocytes renferment des granulations pseudo-éosinophiles.

Il est incontestable que la question du rôle et de l'origine des granulations éosinophiles est très intéressante à plusieurs points de vue. Mais le manque de nos connaissances à ce sujet ne doit nullement faire obstacle à l'appréciation des phénomènes phagocytaires. Très répandus parmi les invertébrés complètement privés d'éléments éosinophiles, les phagocytes présentent une extension si générale qu'ils ne peuvent même pas de loin être comparés avec les cellules éosinophiles, si rares en général, et ne se développant abondamment que dans quelques cas isolés.

L'étude du pouvoir bactéricide des humeurs parle de son côté contre l'hypothèse d'une sécrétion alexique des éosinophiles. J'ai déjà fait observer à M. Hankin en 1891 (ces *Annales*, p. 54) que toute théorie d'origine cellulaire des substances bactéricides des humeurs doit avant tout tenir compte de ce fait que l'humeur aqueuse, liquide dépourvu d'éléments cellulaires, possède une propriété bactéricide très prononcée. D'après tout ce que nous savons et sur l'humeur aqueuse et sur les cellules éosinophiles, nous n'avons pas le moindre droit d'admettre un rapport quelconque entre les deux.

Après tout ce qui a été brièvement exposé dans cette revue, il ne reste qu'à conclure que la théorie des alexocytes, malgré son ingéniosité, ne peut être admise ni comme prouvée, ni comme probable.

EL. METCHNIKOFF.

SUR LE MÉCANISME DE LA COAGULATION

REVUE CRITIQUE

Dans les travaux déjà nombreux qui ont porté sur les substances albuminoïdes et coagulables, il n'en est encore aucun, à ma connaissance, où se trouve abordée d'une façon directe l'étude des causes du phénomène de la coagulation. Presque partout on l'a assimilé, en gros, au dépôt d'un sel dans une liqueur où il est devenu insoluble, et on s'est cru autorisé, par cette analogie, à considérer comme différentes les matières albuminoïdes qui se coagulaient dans des conditions différentes, à des températures inégales, ou sous l'influence de divers réactifs, ou de doses inégales du même réactif.

Des corps ainsi séparés, on s'est hâté de faire l'analyse élémentaire, oubliant que cette analyse ne peut avoir de signification précise que lorsqu'elle porte sur un corps *déjà bien défini*, dont elle donne la composition. L'idée de chercher dans l'analyse élémentaire un *complément d'information*, un caractère distinctif qu'on ne trouvait pas ailleurs, cette idée, disons-nous, était d'autant plus fâcheuse que ces matières coagulables, on le savait, s'entraînent facilement les unes les autres en se déposant, et que par conséquent, rien ne garantissait d'avance l'homogénéité du produit obtenu. En fait, l'expérience s'est chargée d'avertir les savants de l'erreur commise, en donnant des compositions identiques pour des précipités obtenus dans des conditions diverses, des compositions différentes pour des corps obtenus dans des conditions en apparence identiques. C'est du pur fétichisme que d'accorder, dans ces conditions, une créance quelconque à l'analyse.

L'échec tenait à ce que la réaction de coagulation n'est pas une réaction définie. C'est ce que j'ai démontré d'une façon irréfutable, je crois, en me servant du sulfate de quinine. Les raisons qui ont paru suffisantes pour distinguer les matières albuminoïdes en nucléines, globulines, albumines, permettent avec tout autant ou tout aussi peu de raison de distinguer des sulfates d'albumoquinine, de globuloquinine, de nucléoquinine, etc., et on pourrait en dire autant pour d'autres sels d'alcaloïdes. Comme cela est manifestement impossible, ces raisons sont donc illusoires, et tout se trouve remis en question au sujet de la distinction des diverses matières albuminoïdes. Nous trouverons, dans

la suite de ce travail, un nouvel argument concluant dans le même sens.

Tout ceci nous dit bien que la coagulation n'est pas un phénomène comparable à la précipitation du sulfate de baryte ou du chlorure d'argent, ou même du phosphate ammoniaco-magnésien, bien que ces derniers précipités ressemblent un peu à ceux des matières albuminoïdes. Mais où sont les différences? A quoi la coagulation doit-elle son caractère spécial? Pourquoi est-elle à la fois un phénomène banal et très particulier, banal en ce qu'il peut être provoqué par les causes les plus diverses, particulier en ce sens qu'il ne se présente que dans certaines substances, lesquelles ne semblent pas pouvoir subsister sans le présenter! Voilà des points essentiels sur lesquels la science ne nous dit rien, ou ne nous fournit que des réponses vagues et contradictoires.

La plus nette en apparence est celle qui voit dans la coagulation un phénomène de soudure moléculaire. On sait ou on croit savoir depuis longtemps que les matières albuminoïdes ont un poids moléculaire très élevé, c'est-à-dire contiennent un très grand nombre d'atomes; on pense aussi, surtout depuis les travaux de Graham, qu'elles ont aussi une grosseur moléculaire considérable, c'est-à-dire que leurs molécules peuvent se souder de façon à former des *complexes* volumineux. C'est par la grosseur de la molécule des colloïdes que Graham expliquait comment ces substances ne passent pas par les pores des membranes organiques et ne sont pas dialysables. Mais cette idée n'était évidemment pas nette dans son esprit. La preuve c'est qu'il croyait que ces substances colloïdes pouvaient entrer en solution parfaite comme les sels. Comment comprendre dès lors que la *grosseur* des molécules fût différente dans une solution de gomme non dialysable et dans une solution de sel marin de même concentration. Pour que la grosseur des groupements d'une même quantité de matière fût beaucoup plus grande dans le cas de la gomme, il fallait évidemment que la matière fut autrement distribuée, et que l'homogénéité de la solution cessât d'être absolue, au moins dans l'un des liquides.

Quoi qu'il en soit, cette soudure moléculaire une fois admise dans le liquide, on pouvait admettre qu'elle se continuait et produisait des groupements de plus en plus volumineux à mesure que le liquide se coagulait, de sorte qu'à pousser les choses à l'extrême, toute la caséine d'un lait formait une masse unique, résultant de la soudure de toutes les molécules, lorsque le lait s'était caillé.

Toutefois, cette conception, très simple en apparence, n'expliquait pas tout le phénomène. Dans une solution saline qui cristallise, tous les éléments présents dans la liqueur se réunissent en masses de plus en plus volumineuses, et on peut, avec quelques précautions, assembler en

un seul cristal régulier tout l'alun contenu dans une liqueur. Personne ne consentira pourtant à assimiler la coagulation et la cristallisation. Le mode d'union des éléments, de soudure si on veut, n'est pas le même. Les éléments d'un cristal se dissocient facilement et rentrent en solution : une matière coagulée est plus résistante, devient parfois tout à fait insoluble. La soudure qui en a réuni les particules semble être plus forte, et, de là à l'envisager comme un phénomène chimique, il n'y avait qu'un pas, facile à franchir avec nos idées actuelles. Il suffisait, par exemple, d'admettre que deux molécules se soudent, soit par leurs atomicités libres, si ce sont des chaînes ouvertes, soit avec élimination d'une molécule d'eau, si ce sont des chaînes fermées. Et c'est ainsi que s'est constituée l'explication la plus généralement acceptée des phénomènes de coagulation.

Je pourrais me dispenser de la discuter, car elle est restée jusqu'ici purement hypothétique. Il n'est pas facile d'observer les effets du départ d'une molécule d'eau dans la soudure de deux molécules lorsque celles-ci sont déjà compliquées, à plus forte raison lorsque les deux groupements qui se soudent sont déjà des complexes moléculaires. Mais je voudrais pourtant montrer que lorsqu'il s'agit des matières albuminoïdes ou plus généralement des corps colloïdes, tous les raisonnements dans le genre de celui qui précède sont viciés par une cause d'erreur, l'oubli de l'un des caractères principaux de ce même corps colloïdal sur lequel on raisonne.

Pour le faire, je prendrai un exemple dans un travail, très intéressant du reste, de MM. Linder et Picton¹ sur quelques hydrosulfures métalliques. MM. Linder et Picton ont observé que beaucoup de sulfures métalliques, quelle que soit la façon de les préparer, retiennent obstinément un peu d'hydrogène sulfuré en excès, qui ne se laisse éliminer ni par les lavages ni par un courant d'hydrogène, ni même quelquefois par la chaleur. Au moins dans ce dernier cas, l'élimination de l'hydrogène sulfuré en excès est souvent lente. C'est ainsi que du sulfure de mercure sec, chauffé dans l'hydrogène sec, n'avait pas encore perdu tout son hydrogène sulfuré au bout de 17 heures.

MM. Linder et Picton n'hésitèrent pas à considérer cet hydrogène sulfure, si obstinément retenu, comme combiné avec le sulfure métallique, toutes les fois au moins que la proportion conservée est constante ou à peu près constante, et ils arrivent ainsi à admettre comme démontrée l'existence de composés dans lesquels, pour prendre l'exemple cité plus haut, il y aurait une molécule d'hydrogène sulfuré combinée avec 31 ou même 62 molécules de sulfure de mercure. Le lien de ces phénomènes avec ceux que nous étudions est évident.

1. *Journal of Chem. Soc.*, février 1892, p. 114.

Le premier précipité obtenu est un sulfure $(MS)^n, H^2S$ où n a une valeur relativement petite. Sous certaines influences, ce composé élimine de l'hydrogène sulfuré, comme les matières albuminoïdes en se coagulant éliminent de l'eau; on a ainsi un nouveau composé $(MS)^{n'}, H^2O$, où n' est plus grand que n , et ainsi de suite. Avec le cuivre, l'hydrosulfure $7CuS, H^2S$ passe, sous l'action des acides, par des états successifs exprimés plus ou moins approximativement par les formules $9CuS, H^2S$, et $22CuS, H^2S$, jusqu'à arriver finalement à la molécule composée de $(CuS)^n$ seule, où n est probablement plus grand que 22, résultat qui confirme les autres preuves du caractère complexe des sulfures... Avec le mercure, en supposant que le précipité soit un composé défini, la molécule $(HgS)^n$ serait certainement composée d'au moins 62 molécules d' HgS .

Notons que ces molécules complexes ont, comme l'ont très bien montré MM. Picton et Linder, quelques-unes au moins des principales propriétés des colloïdes, ne sont ni diffusibles ni dialysables, sont coagulables soit par les acides, soit par les sels, soit par l'ébullition, donnent la réaction de Tyndall, etc. Voilà donc en action sous nos yeux, et accessible en apparence à l'expérience, un mécanisme de soudure moléculaire analogue à celui que nous avons admis tout à l'heure pour l'explication des phénomènes de coagulation.

Mais l'objection est toujours la même : rien ne prouve que les hydrosulfures de MM. Linder et Picton soient des composés définis. Quand on les étudie sans idées préconçues, voici ce qu'on voit. Il y a des métaux, comme l'arsenic, avec lesquels il n'en est pas question. « Pour ce corps, après un grand nombre d'essais et l'emploi de méthodes variées, toutes les tentatives pour obtenir des résultats concordants ou définis ont dû être abandonnées » (*l. c.*, p. 27). Pour le cuivre, au contraire, chaque mode de préparation a, pour ainsi dire, fourni son hydrosulfure, à composition à peu près constante. Entre ces deux extrêmes se placent les autres métaux étudiés. Là où la composition était à peu près constante, il était toujours facile de trouver une formule chimique représentant à peu près les résultats. Quand on consent à mettre 62 molécules de sulfure de mercure dans une molécule d'hydrosulfure, le calcul peut serrer de près l'expérience : mais ce calcul, par lui-même, ne signifie rien si le corps auquel il s'applique n'est pas défini par ailleurs.

Le seul caractère signalé pour ces hydrosulfures, c'est qu'ils donnent des résultats concordants à l'analyse, quand ils sont préparés dans les mêmes conditions, et qu'ils sont ordinairement assez stables. Or, c'est là aussi le caractère de toutes les actions de teinture, de tous les phénomènes d'adhésion moléculaire. Là où les sulfures de MM. Linder

et Picton sont colloïdaux, ils ont pu entraîner, en se précipitant, un peu de l'hydrogène sulfuré de la liqueur, contracter avec lui une union plus ou moins stable, mais qui diffère d'une combinaison véritable par son caractère mal défini, par la disproportion entre le poids du sulfure et le poids de l'hydrogène sulfuré, par la variabilité dans les proportions suivant les conditions de précipitation, bref, par tous les caractères que MM. Picton et Linder signalent avec soin dans leurs hydrosulfures, et qu'ils s'attachent à oublier pour en faire ensuite des composés définis.

Il est clair ici qu'il ne faut pas pousser les choses à l'extrême et voir partout des adhésions moléculaires. Il est sûr, pour ne pas sortir de notre sujet, que les métaux alcalins, par exemple, donnent des hydrosulfures bien définis. D'une manière générale, les adhésions moléculaires se rattachent par un bout de la chaîne aux actions chimiques vraies, si par l'autre elles confinent aux simples mélanges physiques. Je ne demande donc pas qu'on voie partout des adhésions moléculaires, je voudrais seulement qu'on ne voie pas partout des combinaisons chimiques¹.

Concluons donc que rien ne nous autorise à voir dans la coagulation une série continue de condensations moléculaires. Cette conception semble plus invraisemblable encore quand on l'applique au sulfate de quinine. Voici un sel cristallisé, défini, soluble dans l'eau. Sa

1. Un exemple, qui nous ramène à l'objet de ce travail, va nous montrer nettement la différence des deux points de vue. Dans l'hémoglobine cristallisée, on trouve des quantités de fer un peu variables, mais qui oscillent autour du chiffre de 0,42 % dans l'hémoglobine de chien. En voulant faire entrer cette minime quantité de fer dans la molécule, Preyer s'est trouvé conduit à la formule empirique $C^{900}H^{960}Az^{154}FeS^2O^{179}$. Le poids moléculaire est peut-être encore plus grand, mais il n'y a pas de formule plus simple dans laquelle entrent 0,42 % de fer. Eh bien ! je crois qu'on n'a pas le droit d'admettre, sans plus ample informé, que le fer, le soufre de l'hémoglobine, de même que celui des autres matières albuminoïdes, sont du fer, du soufre combinés, plutôt que du fer, du soufre, appartenant à une combinaison colloïdale ou non, entraînée par l'albumine, l'hémoglobine, qui, elles, sont des corps colloïdaux. Il y aurait alors adhésion moléculaire, non pas combinaison, et on s'expliquerait alors comment dans l'hémoglobine du sang de chien, Hoppe-Seyler a pu trouver 0,39 % de soufre et 0,43 % de fer, tandis que Jacquet y trouvait 0,57 % de soufre et 0,33 % de fer ; comment dans l'hémoglobine du cheval, Kossel a trouvé 0,63 % de soufre et 0,47 % de fer, tandis que Zinoffsky y trouvait 0,39 % de soufre et 0,33 % de fer. De pareilles différences dans le sang d'une même espèce ont de quoi surprendre, surtout quand on songe à la modification énorme qui en résulte dans la formule de l'hémoglobine, quand on y veut faire entrer à toute force la quantité de fer constatée par l'expérience. C'est ainsi que pour Hufner, l'hémoglobine de sang de bœuf, qui contient 0,40 % de fer, doit être représentée par la formule $C^{636}H^{1025}Az^{164}FeS^3O^{181}$. En cherchant bien, on trouverait sûrement, en suivant ces errements, que l'hémoglobine d'un animal qui digère a une formule tout à fait différente de celle d'un animal qui est en appétit, et que les tissus d'un être vivant varient aussi aisément que les images d'un kaléidoscope, en ce qui concerne l'arrangement de leurs molécules.

solution, qui contient 2 grammes environ de sel par litre lorsqu'elle est saturée à la température ordinaire, est dialysable, et passe sans y rien laisser au travers des filtres de porcelaine. C'est donc une solution parfaite, dont les éléments salins auraient, d'après la théorie de la condensation moléculaire, un long chemin à parcourir pour passer de leur état de dilution à celui de complexes moléculaires se déposant sous forme de cristaux, et pourtant l'introduction de un ou deux millièmes de sulfate d'ammoniaque suffit à amener ce changement profond, et à déterminer ces soudures successives aboutissant à l'apparition de cristaux visibles à l'œil nu. Ceux qui ont la foi peuvent ne pas trouver cela surprenant, mais les autres ont le droit de crier à l'invraisemblable.

Il resterait, pour terminer, à envisager une autre théorie de la coagulation dans laquelle on admet que la substance qui se coagule ne le fait que parce qu'elle quitte une combinaison déjà faite, ou qu'elle entre dans une combinaison nouvelle. C'est ainsi, par exemple, que pour Hammarsten, la caséine du lait, qu'il considère comme soluble, se dédouble sous l'influence de la présure en coagulum insoluble et en protéine soluble. Pour MM. Arthus et Pagès, l'insolubilité du caséum résulterait d'une combinaison avec les sels de chaux. J'ai combattu ces deux théories dans mes travaux sur le lait; j'y reviens encore dans ce numéro, et les objections que je leur ai faites peuvent s'appliquer à toutes les théories semblables; c'est qu'aucune d'elles n'est démontrée par les faits qu'on cite à son appui. J'aurai du reste l'occasion de les retrouver quand j'étudierai prochainement la coagulation des trois matières albuminoïdes les mieux connues, l'albumine, la caséine et la fibrine.

E. DUCLAUX.

INSTITUT PASTEUR

Personnes mortes de rage après le traitement :

SCHIRCH LOUIS, 32 ans, de Djidjelli (Algérie), mordu au poignet droit (5 morsures pénétrantes), le 22 août, par un chien que M. Dupuy, vétérinaire à Djidjelli, a reconnu enragé.

Traité à l'Institut Pasteur du 28 août au 11 septembre; mort le 24 octobre. Le 21 octobre, à la suite d'une marche sous une pluie battante, Schirch avait été pris de fièvre et avait dû s'aliter. Les premiers symptômes rabiques sont apparus le 22.

SCHERR ÉMILE, 35 ans, d'Oran, mordu le 9 octobre à la main droite (une morsure peu pénétrante), par un chien que M. Bremond, vétérinaire à Oran, a reconnu enragé.

Traité à l'Institut Pasteur du 16 octobre au 30 octobre, mort le 9 décembre.

D'ALMEIDA JOAD-JOACHIM, d'Aveiro (Portugal), mordu le 28 novembre (7 morsures pénétrantes situées sur la joue et sur la paupière gauche, cautérisées à l'eau-forte un quart d'heure après), par un chien reconnu enragé à ses allures et à ses méfaits. (Lettre du consul de Portugal à Paris.)

Traité à l'Institut Pasteur du 7 décembre au 27 décembre. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés dans le trajet de Paris à Bordeaux. L'enfant est mort le 30 décembre à l'hospice de Bordeaux.

Personne prise de rage pendant le traitement :

GUILLON AUGUSTINE, 17 ans, de Voiron (Isère); mordue le 13 décembre (deux morsures pénétrantes situées sur les deux faces de la lèvre inférieure), par un chien inconnu qui a parcouru le pays en mordant sur son passage un grand nombre d'animaux et qu'on n'a pu rejoindre.

La jeune Guillon est arrivée à l'Institut Pasteur le 16 décembre. Le 2 janvier, au cours du traitement, se sont manifestés les premiers symptômes rabiques, la mort est survenue le 4 janvier.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE ¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — DÉCEMBRE 1892.

		A		B		C	
Morsures à la tête	simples	»	»	»	3	»	1
et à la figure	multiples	»	»	»	3	»	1
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	5	»	1	»
Pas de cautérisation.	»	»	»	1	»	»	»
Morsures aux mains	simples	»	»	»	20	»	13
	multiples	»	1	»	20	»	10
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	19	»	4	»
Pas de cautérisation.	»	»	»	20	»	19	»
Morsures aux mem-	simples	»	1	»	14	»	2
bres et au tronc	multiples	»	2	»	14	»	6
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	13	»	6	»
Pas de cautérisation.	»	3	»	14	»	2	»
Habits déchirés.	»	2	»	20	»	7	»
Morsures à nu.	»	1	»	8	»	1	»
Morsures multiples en divers points du							
corps.	»	1	1	»	2	»	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	2	»	»	»
Pas de cautérisation.	»	1	»	»	»	»	»
Habits déchirés.	»	»	»	»	»	»	»
Morsures à nu.	»	1	»	2	»	»	»
Totaux.		{ Français et Algériens .		{ 58		{ 31	
		{ Etrangers.		{ 18		{ 1	
		A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL				113			

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 112 fois ; âne, 1 fois ;

Le Gérant : G. MASSON.

Seeaux. — Imprimerie Charaire et Cie.